

PCT/EP 03/13091
BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

10/537002

- 9 DEC 2003

Rec'd PCT/PTO 20 MAY 2005



REC'D 04 FEB 2004

WIPO

PC

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen:

102 54 601.0

Anmeldetag:

22. November 2002

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Anmelder/Inhaber:

Ganymed Pharmaceuticals AG, Mainz/DE

Bezeichnung:

Differentiell in Tumoren exprimierte Genprodukte und
deren Verwendung

IPC:

A 61 K, C 12 Q

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 3. Dezember 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Letang

Differentiell in Tumoren exprimierte Genprodukte und deren Verwendung

5

Trotz interdisziplinärer Ansätze und Ausreizung klassischer Therapiemodalitäten gehören Krebserkrankungen weiterhin zu den führenden Todesursachen. Neuere therapeutische Konzepte zielen darauf ab, das patienteneigene Immunsystem durch Einsatz von rekombinanten Tumorstoffen und anderen spezifischen Maßnahmen wie Antikörpertherapie in das therapeutische Gesamtkonzept mit einzubeziehen. Voraussetzung für den Erfolg einer solchen Strategie ist die Erkennung von Tumor-spezifischen oder Tumor-assoziierten Antigenen bzw. Epitopen durch das Immunsystem des Patienten, dessen Effektorfunktionen interventionell verstärkt werden sollen. Tumorzellen unterscheiden sich biologisch wesentlich von ihren nichtmalignen Ursprungszellen. Diese Differenzen sind durch während der Tumorentwicklung erworbene genetische Veränderungen bedingt und führen u.a. auch zur der Bildung qualitativ oder quantitativ veränderter molekularer Strukturen in den Krebszellen. Werden solche Tumor-assoziierten Strukturen vom spezifischen Immunsystem des tumortragenden Wirtes erkannt, spricht man von tumor-assoziierten Antigenen. An der spezifischen Erkennung von tumor-assoziierten Antigenen sind zelluläre und humorale Mechanismen beteiligt, die zwei miteinander funktionell vernetzte Einheiten darstellen: $CD4^+$ und $CD8^+$ T-Lymphozyten erkennen prozessierte Antigene, die auf den Molekülen der MHC- (Major Histocompatibility complex = HistokompatibilitätsAntigene) Klassen II bzw. I präsentiert werden, während B-Lymphozyten zirkulierende Antikörpermoleküle produzieren, die direkt an unprozessierte Antigene binden. Die potentielle klinisch-therapeutische Bedeutung von tumor-assoziierten Antigenen ergibt sich aus der Tatsache, dass die Erkennung von Antigenen auf neoplastischen Zellen durch das Immunsystem zur Initiierung von cytotoxischen Effektormechanismen führt und bei Vorhandensein von T-Helferzellen die Elimination der Krebszellen bewirken kann (Pardoll, *Nat. Med.* 4:525-31, 1998). Entsprechend ist es eine zentrale Zielsetzung der Tumorummunologie, diese Strukturen molekular zu definieren. Die molekulare Natur dieser Antigene blieb lange enigmatisch. Erst als entsprechende Klonierungstechniken entwickelt wurden, gelang es, durch Analyse der Zielstrukturen von cytotoxischen T-Lymphozyten (CTL) (van der Bruggen et al., *Science* 254:1643-7, 1991) bzw. mit zirkulierenden Autoantikörpern (Sahin et al., *Curr. Opin. Immunol.* 9:709-16, 1997) als Sonden cDNA-Expressionsbanken von Tumoren systematisch auf tumor-assoziierte Antigene zu screenen. Hierzu wurden cDNA-Expressionsbanken aus

frischem Tumorgewebe hergestellt und in geeigneten Systemen als Proteine rekombinant exprimiert. Aus Patienten isolierte Immuneffektoren, nämlich CTL-Klone mit Tumorspezifischem Lysemuster, oder zirkulierende Autoantikörper wurden genutzt, um die respektiven Antigene zu klonieren.

- 5 Durch diese Ansätze sind in den letzten Jahren eine Vielzahl von Antigenen in verschiedenen Neoplasien definiert worden. Allerdings nutzen die oben dargestellten klassischen Verfahren zur Antigenidentifizierung Immuneffektoren (zirkulierende Autoantikörper oder CTL-Klone) aus Patienten mit in der Regel bereits fortgeschrittenem Krebs als Sonden. Aus einer Reihe von Daten geht hervor, dass Tumoren z.B. zur Tolerisierung und Anergisierung von T-Zellen führen können und gerade im Verlauf der Erkrankung diejenigen Spezifitäten aus dem Immuneffektorenrepertoire verloren gehen, die eine effektive Immunerkennung bewirken könnten. Aus laufenden Patientenstudien hat sich noch kein gesicherter Beweis für eine tatsächliche Wirkung der bisher entdeckten und genutzten tumor-assoziierten Antigene ergeben. Entsprechend kann nicht ausgeschlossen werden, dass spontane Immunantworten
- 15 evozierende Proteine die falschen Zielstrukturen sind.

Es war die Aufgabe der vorliegenden Erfindung Zielstrukturen für eine Diagnose und Therapie von Krebserkrankungen bereitzustellen.

- 2 Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch den Gegenstand der Patentansprüche gelöst.

- Erfindungsgemäß wurde eine Strategie für eine Identifizierung und Bereitstellung Tumor-assoziiert exprimierter Antigene und der dafür kodierenden Nukleinsäuren verfolgt. Diese Strategie beruht auf der Tatsache, dass bestimmte Gene, die Organ-spezifisch, z. Bsp. ausschließlich im Kolon-, Lungen-, oder Nieren-Gewebe exprimiert werden, in den entsprechenden Organen auch von Tumorzellen und darüber hinaus in anderen Geweben in Tumorzellen ektop und unerlaubt reaktiviert werden. Durch Datamining wird zunächst eine möglichst komplette Liste aller bekannten Organ-spezifischen Gene aufgestellt und diese sodann durch Expressionsanalysen mittels spezifischer RT-PCR auf ihre aberrante
- 25 Aktivierung in unterschiedlichen Tumoren evaluiert. Datamining ist ein bekanntes Verfahren zur Identifizierung von Tumor-assoziierten Genen. Bei den herkömmlichen Strategien werden allerdings in der Regel Transkriptome von Normalgewebesbanken elektronisch von Tumorgewebsbanken subtrahiert unter der Annahme, dass die verbleibenden Gene Tumor-
- 30

spezifisch sind (Schmitt et al., *Nucleic Acids Res.* 27:4251-60, 1999; Vasmatazis et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95:300-4, 1998. Scheurle et al., *Cancer Res.* 60:4037-43, 2000).

Das erfindungsgemäße Konzept, das sich als viel erfolgreicher erwiesen hat, beruht jedoch darauf, Datamining zur elektronischen Extraktion aller Organ-spezifischer Gene zu nutzen
5 und diese sodann auf Expression in Tumoren zu evaluieren.

Somit betrifft die Erfindung in einem Aspekt eine Strategie zur Identifizierung von Gewebespezifischen und differentiell in Tumoren exprimierten Genen. Diese kombiniert Datamining von öffentlichen Sequenzbanken ("*in silico*") mit darauffolgenden evaluierenden labor-
1 experimentellen ("*wet bench*") Untersuchungen.

Eine kombinierte Strategie basierend auf zwei unterschiedlichen bioinformatischen Skripten ermöglichte erfindungsgemäß die Identifizierung neuer Tumor-Gene. Diese sind bisher als rein Organ-spezifisch eingestuft worden. Die Erkenntnis, dass diese Gene aberrant in
15 Tumorzellen aktiviert werden, erlaubt, ihnen eine substantiell neue Qualität mit funktionellen Implikationen zuzuordnen. Die Identifizierung und Bereitstellung dieser tumor-assoziierten Gene und der dadurch kodierten Genprodukte erfolgte erfindungsgemäß unabhängig von einer immunogenen Wirkung.

Die erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigene weisen eine Aminosäuresequenz auf, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus (SEQ ID NO: 1-8, 41-44, 51-59, 84), einem Teil oder
25 Derivat davon ausgewählt ist, (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert, (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist. In einer bevorzugten Ausführungsform weist ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen eine Aminosäuresequenz auf, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe
30 bestehend aus (SEQ ID NO: 1-8, 41-44, 51-59, 84) ausgewählt ist. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen eine Aminosäuresequenz, die aus der Gruppe bestehend aus (SEQ ID NO: 9-19, 45-48, 60-66, 85), einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist.

Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein die Verwendung von erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigenen oder von Teilen davon, von dafür kodierenden Nukleinsäuren oder von Nukleinsäuren, die gegen die kodierenden Nukleinsäuren gerichtet sind oder von Antikörpern, die gegen die erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigene oder Teile davon gerichtet sind, für die Therapie und Diagnose. Diese Nutzung kann
 5 einzelne, aber auch Kombinationen von mehreren dieser Antigene, funktionalen Fragmente, Nukleinsäuren, Antikörper etc. betreffen, in einer Ausführungsform auch in Kombination mit anderen tumor-assoziierten Genen und Antigenen für eine Diagnose, Therapie und Verlaufskontrolle.

1 Bevorzugte Erkrankungen für eine Therapie und/oder Diagnose sind solche, bei denen eine selektive Expression oder abnormale Expression von einem oder mehreren der erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigenen vorliegt.

Die Erfindung betrifft auch Nukleinsäuren und Genprodukte, die tumorzellassoziiert
 15 exprimiert werden und die durch verändertes Spleißen (Spleißvarianten) bekannter Gene bzw. durch veränderte Translation unter Nutzung alternativer offener Leserahmen entstehen. Diese Nukleinsäuren umfassen die Sequenzen gemäß (SEQ ID NO: 3-5) des Sequenzprotokolls. Ferner umfassen die Genprodukte Sequenzen gemäß (SEQ ID NO: 10, 12-14) des Sequenzprotokolls. Die erfindungsgemäßen Spleißvarianten sind erfindungsgemäß als Targets
 2 für die Diagnostik und Therapie von Tumorerkrankungen verwendbar.

In einer weiteren Ausführungsform betrifft die Erfindung eine Protein-Sequenz (SEQ ID NO: 10), die durch einen erfindungsgemäß identifizierten alternativen offenen Leseraster kodiert wird und sich von der vorbeschriebenen Protein-Sequenz (SEQ ID NO: 9) durch 85
 25 zusätzliche Aminosäuren am N-Terminus des Proteins unterscheidet.

Für die Entstehung von Spleißvarianten können verschiedenste Mechanismen ursächlich sein, beispielsweise

- die Nutzung variabler Transkriptionsinitiationsstellen
- die Nutzung zusätzlicher Exons
- 30 - vollständiges oder unvollständiges Aus Spleißen von einzelnen oder mehreren Exons,
- über Mutation veränderte Spleißregulatorsequenzen (Deletion bzw. Schaffung neuer Donor/Acceptorsequenzen),
- die unvollständige Elimination von Intronsequenzen.

Das veränderte Spleißen eines Gens führt zu einer veränderten Transkriptsequenz (Spleißvariante). Wird eine Spleißvariante im Bereich ihrer veränderten Sequenz translatiert, resultiert ein verändertes Protein, welches sich von dem ursprünglichen in Struktur und Funktion deutlich unterscheiden kann. Bei tumorassoziierten Spleißvarianten können

5 tumorassoziierte Transkripte und tumorassoziierte Proteine/Antigene entstehen. Diese können als molekulare Marker sowohl zum Nachweis von Tumorzellen als auch zum therapeutischen Targeting von Tumoren genutzt werden. Die Detektion von Tumorzellen z.B. im Blut, Serum, Knochenmark, Sputum, Bronchial-Lavage, Körpersekreten und Gewebsbiopsien kann erfindungsgemäß z.B. nach Extraktion von Nukleinsäuren durch PCR-Amplifikation mit Spleißvariantenspezifischen Oligonukleotiden erfolgen. Als Oligonukleotide eignen sich insbesondere Paare von Primern von denen mindestens einer unter stringenten Bedingungen an die Region der Spleißvariante bindet, die tumorassoziiert ist. Erfindungsgemäß geeignet sind insbesondere die unter (SEQ ID NO: 34-36) gezeigten Oligonukleotide. Zum Nachweis eignen sich erfindungsgemäß alle Sequenz-abhängigen Detektionssysteme. Neben der PCR

15 sind diese z.B. Genchip-/Microarraysysteme, Northern-Blot, RNase protection assays (RDA) und andere. Allen Detektionssystemen ist gemeinsam, dass die Detektion auf einer spezifischen Hybridisierung mit mindestens einer Spleißvarianten-spezifischen Nukleinsäuresequenz basiert. Die Detektion von Tumorzellen kann jedoch auch erfindungsgemäß durch Antikörper erfolgen, die ein durch die Spleißvariante kodierte spezifisches Epitop erkennen. Für die Herstellung der Antikörper können Peptide zur Immunisierung verwendet werden, die für diese Spleißvariante spezifisch sind. Für die Immunisierung eignen sich besonders die Aminosäuren, die deutliche Epitopunterschiede zu der Variante(n) des Genprodukts aufweisen, welche(s) bevorzugt in gesunden Zellen gebildet wird. Der Nachweis der Tumorzellen mit Antikörper kann dabei an einer vom Patienten

25 isolierten Probe oder als Imaging mit intravenös applizierten Antikörpern erfolgen. Neben der diagnostischen Nutzbarkeit stellen Spleißvarianten, die neue oder veränderte Epitope aufweisen, attraktive Targets für die Immuntherapie dar. Die erfindungsgemäßen Epitope können zum Targeting von therapeutisch wirksamen monoklonalen Antikörpern oder T-Lymphozyten genutzt werden. Bei der passiven Immuntherapie werden hierbei Antikörper

30 oder T-Lymphozyten adoptiv transferriert, die Spleißvarianten-spezifische Epitope erkennen. Die Generierung von Antikörpern kann wie bei anderen Antigenen auch unter Nutzung von Standardtechnologien (Immunisierung von Tieren, Panningstrategien zur Isolation von rekombinanten Antikörpern) unter Nutzung von Polypeptiden, die diese Epitope beinhalten, erfolgen. Alternativ können zur Immunisierung Nukleinsäuren genutzt werden, die für Oligo-

oder Polypeptide kodieren, die diese Epitope beinhalten. Verschiedene Techniken zur in vitro oder in vivo Generierung von epitopspezifischen T-Lymphozyten sind bekannt und ausführlich beschrieben z.B. (Kessler JH, et al. 2001, Sahin et al., 1997) und basieren ebenfalls auf der Nutzung von Oligo-oder Polypeptide, die die Spleißvarianten-spezifischen Epitope beinhalten oder Nukleinsäuren, die für diese kodieren. Oligo-oder Polypeptiden, die die Spleißvarianten-spezifischen Epitope beinhalten oder Nukleinsäuren, die für diese Polypeptide kodieren sind auch für die Nutzung als pharmazeutisch wirksame Substanzen bei der aktiven Immuntherapie (Vakzinierung, Vakzintherapie) verwendbar.

1 In einem Aspekt betrifft die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung umfassend ein Mittel, das das erfindungsgemäß identifizierte Tumor-assoziierte Antigen erkennt und vorzugsweise selektiv für Zellen ist, die eine Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens aufweisen. Das Mittel kann in bestimmten Ausführungsformen die Induktion des Zelltods, die Reduktion des Zellwachstums, die Schädigung der Zellmembran oder die Sekretion von Zytokinen bewirken und weist vorzugsweise eine tumorhemmende Aktivität auf. In einer Ausführungsform ist das Mittel eine Antisense-Nukleinsäure, die selektiv mit der Nukleinsäure hybridisiert, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert. In einer weiteren Ausführungsform ist das Mittel ein Antikörper, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet, insbesondere ein komplementaktivierter oder Toxin-konjugierter Antikörper, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet. In einer weiteren Ausführungsform umfasst das Mittel mehrere Mittel, die jeweils selektiv verschiedene Tumor-assoziierte Antigene erkennen, wobei mindestens eines der Tumor-assoziierten Antigene ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen ist. Die Erkennung muss nicht direkt mit einer Hemmung von Aktivität oder Expression des Antigens einhergehen. In diesem Aspekt der Erfindung dient das selektiv auf Tumoren beschränkte Antigen vorzugsweise als Markierung zur Rekrutierung von Effektormechanismen an diesen spezifischen Ort. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Mittel ein cytotoxischer T-Lymphozyt, der das Antigen auf einem HLA-Molekül erkennt und die derartig markierte Zelle lysiert. In einer weiteren Ausführungsform ist das Mittel ein Antikörper, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet und somit natürliche oder artifizielle Effektormechanismen zu dieser Zelle rekrutiert. In einer weiteren Ausführungsform ist das Mittel ein T-Helfer-Lymphozyt, der Effektorfunktionen von anderen Zellen, die spezifisch dieses Antigen erkennen, stärkt.

In einem Aspekt betrifft die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung umfassend ein Mittel, das die Expression oder Aktivität eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens hemmt. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Mittel eine Antisense-Nukleinsäure, die selektiv mit der Nukleinsäure hybridisiert, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert. In einer weiteren Ausführungsform ist das Mittel ein Antikörper, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet. In einer weiteren Ausführungsform umfasst das Mittel mehrere Mittel, die jeweils selektiv die Expression oder Aktivität verschiedener Tumor-assoziiierter Antigene hemmen, wobei mindestens eines der Tumor-assoziierten Antigene ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen ist.

Des weiteren betrifft die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die ein Mittel umfasst, das bei einer Verabreichung selektiv die Menge an Komplexen zwischen einem HLA-Molekül und einem Peptidpitop aus dem erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigen erhöht. Das Mittel umfasst in einer Ausführungsform einen oder mehrere Bestandteile, die aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus (i) dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon, (ii) einer Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon kodiert, (iii) einer Wirtszelle, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimiert, und (iv) isolierten Komplexen zwischen Peptidpitopen aus dem Tumor-assoziierten Antigen und einem MHC-Molekül. In einer Ausführungsform umfasst das Mittel mehrere Mittel, die jeweils selektiv die Menge an Komplexen zwischen MHC-Molekülen und Peptidpitopen verschiedener Tumor-assoziiierter Antigene erhöhen, wobei mindestens eines der Tumor-assoziierten Antigene ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen ist.

Des weiteren betrifft die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die einen oder mehrer Bestandteile umfasst, die aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus (i) einem erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon, (ii) einer Nukleinsäure, die für ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon kodiert, (iii) einem Antikörper, der an ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon bindet, (iv) einer Antisense-Nukleinsäure, die spezifisch mit einer Nukleinsäure, die für ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen kodiert, hybridisiert, (v) einer Wirtszelle, die ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon exprimiert, und (vi)

isolierten Komplexen zwischen einem erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem HLA-Molekül.

5 Eine Nukleinsäure, die für ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon kodiert, kann in der pharmazeutische Zusammensetzung in einem Expressionsvektor vorliegen und funktionell mit einem Promotor verbunden sein.

10 Eine in einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung enthaltene Wirtszelle kann das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon sekretieren, auf der Oberfläche exprimieren oder kann zusätzlich ein HLA-Molekül exprimieren, das an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon bindet. In einer Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle das HLA-Molekül endogen. In einer weiteren Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle das HLA-Molekül und/oder das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon rekombinant. Vorzugsweise ist die Wirtszelle nicht-proliferativ. In einer bevorzugten
15 Ausführungsform ist die Wirtszelle eine Antigen-präsentierende Zelle, insbesondere eine dendritische Zelle, ein Monozyt oder ein Makrophage.

20 Ein in einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung enthaltener Antikörper kann ein monoklonaler Antikörper sein. In weiteren Ausführungsformen ist der Antikörper ein chimärer oder humanisierter Antikörper, ein Fragment eines natürlichen Antikörpers, oder ein synthetischer Antikörper, die durch kombinatorische Techniken hergestellt werden können. Der Antikörper kann mit einem therapeutisch oder diagnostisch nützlichen Mittel gekoppelt sein.

25 Eine in einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung enthaltene Antisense-Nukleinsäure kann eine Sequenz von 6-50, insbesondere 10-30, 15-30 und 20-30 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure, die für das erfindungsgemäß identifizierte Tumor-assoziierte Antigen kodiert, umfassen.

30 In weiteren Ausführungsformen bindet ein durch eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung entweder direkt oder durch die Expression einer Nukleinsäure bereitgestelltes Tumor-assoziiertes Antigen oder ein Teil davon an MHC-Moleküle auf der Oberfläche von Zellen, wobei die Bindung vorzugsweise eine cytolytische Reaktion hervorruft und/oder eine Cytokinausschüttung induziert.

Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung kann einen pharmazeutisch verträglichen Träger und/oder ein Adjuvans umfassen. Das Adjuvans kann aus Saponin, GM-CSF, CpG-Nukleotiden, RNA, einem Zytokin oder einem Chemokin ausgewählt sein. Eine

5 erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung wird vorzugsweise zur Behandlung einer Erkrankung eingesetzt, die sich durch die selektive Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Erkrankung Krebs.

10 Des weiteren betrifft die Erfindung Verfahren zur Behandlung oder Diagnose einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines oder mehrerer Tumor-assoziierten Antigene auszeichnet. In einer Ausführungsform umfasst die Behandlung die Verabreichung einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung.

15 In einem Aspekt betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Diagnose einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet. Das Verfahren umfasst den Nachweis (i) einer Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teils davon und/oder

20 (ii) den Nachweis des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon, und/oder (iii) den Nachweis eines Antikörpers gegen das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon und/oder (iv) den Nachweis von cytotoxischen oder Helfer-T-Lymphozyten, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon spezifisch sind in einer aus einem Patienten isolierten biologischen Probe. In bestimmten Ausführungsformen umfasst der Nachweis (i)

25 die Kontaktierung der biologischen Probe mit einem Mittel, das spezifisch an die Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder den Teil davon, an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon, an den Antikörper oder an cytotoxische oder Helfer-T-Lymphozyten, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder Teile davon spezifisch sind, bindet und (ii) den Nachweis der Komplexbildung zwischen dem Mittel und der Nukleinsäure oder dem Teil davon, dem Tumor-assoziierten Antigen oder dem Teil davon,

30 dem Antikörper oder den cytotoxischen oder Helfer-T-Lymphozyten. In einer Ausführungsform zeichnet sich die Erkrankung durch die Expression oder abnormale Expression mehrerer verschiedener Tumor-assoziiierter Antigene aus und der Nachweis umfasst einen Nachweis mehrerer Nukleinsäuren, die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene kodieren, oder von Teilen davon, den Nachweis der mehreren

verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder von Teilen davon, den Nachweis mehrerer Antikörper, die an die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder an Teile davon binden oder den Nachweis mehrerer cytotoxischer oder Helfer-T-Lymphozyten, die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene spezifisch sind. In einer weiteren
 5 Ausführungsform wird die isolierte biologische Probe aus dem Patienten mit einer vergleichbaren normalen biologischen Probe verglichen.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Bestimmung der Regression, des Verlaufs oder des Ausbruchs einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend die Überwachung einer Probe aus einem Patienten, der die Erkrankung aufweist oder in Verdacht steht, an der Erkrankung zu erkranken in Bezug auf einen oder mehrere Parameter, die aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus (i) der Menge der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teil
 15 davon, (ii) der Menge des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon, (iii) der Menge an Antikörpern, die an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon binden, und (iv) der Menge an cytolytischen T-Zellen oder Helfer-T-Zellen, die für einen Komplex zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem MHC-Molekül spezifisch sind. Vorzugsweise umfasst das Verfahren die Bestimmung des oder der Parameter zu einem ersten Zeitpunkt in einer ersten Probe und zu einem zweiten Zeitpunkt in einer weiteren Probe, wobei durch einen Vergleich der beiden Proben der Verlauf der Erkrankung ermittelt wird. In bestimmten Ausführungsformen zeichnet sich die Erkrankung durch die Expression oder abnormale Expression mehrerer verschiedener Tumor-assoziiierter Antigene aus und die Überwachung umfasst eine Überwachung (i) der Menge mehrerer Nukleinsäuren,
 25 die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene kodieren, oder von Teilen davon und/oder (ii) der Menge der mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder von Teilen davon und/oder (iii) der Menge mehrerer Antikörper, die an die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder an Teile davon binden, und/oder (iv) der Menge mehrerer cytolytischer T-Zellen oder Helfer-T-Zellen, die für Komplexe zwischen den
 30 mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigenen oder von Teilen davon und MHC-Molekülen spezifisch sind.

Ein Nachweis einer Nukleinsäure oder eines Teils davon oder eine Überwachung der Menge einer Nukleinsäure oder eines Teils davon kann erfindungsgemäß mit einer Polynukleotid-

Sonde erfolgen, die spezifisch mit der Nukleinsäure oder dem Teil davon hybridisiert oder kann durch selektive Amplifikation der Nukleinsäure oder des Teils davon erfolgen. In einer Ausführungsform umfasst die Polynukleotid-Sonde eine Sequenz von 6-50, insbesondere 10-30, 15-30 und 20-30 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure.

5

In bestimmten Ausführungsformen liegt das nachzuweisende Tumor-assoziierte Antigen oder der Teil davon intrazellulär oder auf der Zelloberfläche vor. Ein Nachweis eines Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon oder eine Überwachung der Menge eines Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon kann erfindungsgemäß mit einem Antikörper erfolgen, der spezifisch an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon bindet.

15

In weiteren Ausführungsformen liegt das nachzuweisende Tumor-assoziierte Antigen oder der Teil davon in einem Komplex mit einem MHC-Molekül, insbesondere einem HLA-Molekül vor.

Ein Nachweis eines Antikörpers oder die Überwachung der Menge an Antikörpern kann erfindungsgemäß mit einem Protein oder Peptid erfolgen, das spezifisch an den Antikörper bindet.

25

Ein Nachweis von cytolytischen T-Zellen oder Helfer-T-Zellen oder die Überwachung der Menge an cytolytischen T-Zellen oder Helfer-T-Zellen, die für Komplexe zwischen einem Antigen oder einem Teil davon und MHC-Molekülen spezifisch sind, kann erfindungsgemäß mit einer Zelle erfolgen, die den Komplex zwischen dem Antigen oder dem Teil davon und einem MHC-Molekül präsentiert.

30

Die für einen Nachweis oder für eine Überwachung verwendete Polynukleotid-Sonde, der Antikörper, das Protein oder Peptid oder die Zelle sind vorzugsweise nachweisbar markiert. In bestimmten Ausführungsformen ist der nachweisbare Marker ein radioaktiver Marker oder ein Enzymmarker. Der Nachweis von T-Lymphozyten kann zusätzlich erfolgen durch Nachweis ihrer Proliferation, ihrer Zytokinproduktion, sowie ihrer cytotoxischen Aktivität, die ausgelöst wird durch die spezifische Stimulation mit dem Komplex aus MHC und tumor-assoziiertem Antigen oder Teilen davon. Der Nachweis von T-Lymphozyten kann ferner erfolgen durch ein rekombinantes MHC-Molekül oder auch ein Komplex aus mehreren

MHC-Molekülen, die beladen sind mit dem jeweiligen immunogenen Fragment aus einem oder mehreren der tumorassoziierten Antigene und durch Kontaktierung des spezifischen T-Zell-Rezeptors die spezifischen T-Lymphozyten identifizieren können.

- 5 In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Behandlung, Diagnose oder Überwachung einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend die Verabreichung eines Antikörpers, der an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon bindet und mit einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel gekoppelt ist. Der Antikörper kann ein monoklonaler Antikörper sein. In weiteren Ausführungsformen ist der Antikörper ein chimärer oder humanisierter Antikörper oder ein Fragment eines natürlichen Antikörpers.

- 15 Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Behandlung eines Patienten mit einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend (i) die Entfernung einer Probe mit immunreaktiver Zellen aus dem Patienten, (ii) die Kontaktierung der Probe mit einer Wirtszelle, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimiert, unter Bedingungen, die eine Produktion cytolytischer T-Zellen gegen das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon begünstigen, und (iii) das Einbringen der cytolytischen T-Zellen in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, Zellen zu lysieren, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimieren. Die Erfindung betrifft ebenfalls die Klonierung des T-Zell-Rezeptors von cytolytischen T-Zellen gegen das Tumor-assoziierte Antigen. Dieser kann in andere T-Zellen transferiert werden, die damit die erwünschte Spezifität erhalten und wie unter (iii) in den Patienten eingebracht werden können.
- 25

- In einer Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle ein HLA-Molekül endogen In einer weiteren Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle ein HLA-Molekül und/oder das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon rekombinant. Vorzugsweise ist die Wirtszelle nicht-proliferativ. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Wirtszelle eine Antigen-präsentierende Zelle, insbesondere eine dendritische Zelle, ein Monozyt oder ein Makrophage.
- 30

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Behandlung eines Patienten mit einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend (i) die Identifizierung einer für ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen kodierenden Nukleinsäure, die von Zellen exprimiert wird, die mit der Erkrankung assoziiert sind, (ii) die Transfektion einer Wirtszelle mit der Nukleinsäure oder einem Teil davon, (iii) die Kultivierung der transfizierten Wirtszelle für eine Expression der Nukleinsäure (dies ist bei Erreichen einer hohen Transfektionsrate nicht obligat), und (iv) das Einbringen der Wirtszellen oder eines Extrakts davon in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, die Immunreaktion gegen die Zellen des Patienten, die mit der Erkrankung assoziiert sind, zu erhöhen. Das Verfahren kann ferner die Identifizierung eines MHC-Moleküls, das das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon präsentiert, umfassen, wobei die Wirtszelle das identifizierte MHC-Molekül exprimiert und das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon präsentiert. Die Immunreaktion kann eine B-Zellen-Reaktion oder eine T-Zellen-Reaktion umfassen. Des weiteren kann eine T-Zellen-Reaktion die Produktion von cytolytischen T-Zellen und/oder Helfer-T-Zellen umfassen, die spezifisch für die Wirtszellen sind, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon präsentieren oder spezifisch für Zellen des Patienten sind, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimieren.

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Behandlung einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend (i) die Identifikation von Zellen aus dem Patienten, die abnormale Mengen des Tumor-assoziierten Antigens exprimieren, (ii) die Isolierung einer Probe der Zellen, (iii) die Kultivierung der Zellen und (iv) das Einbringen der Zellen in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, eine Immunreaktion gegen die Zellen auszulösen.

Vorzugsweise sind die erfindungsgemäß verwendeten Wirtszellen nicht-proliferativ oder werden nicht-proliferativ gemacht. Eine Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, ist insbesondere Krebs.

Des weiteren betrifft die vorliegende Erfindung eine Nukleinsäure, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst,

die aus der Gruppe bestehend aus (SEQ ID NO: 3-5) einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist, (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert, (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a),
5 (b) oder (c) komplementär ist. Des weiteren betrifft die Erfindung eine Nukleinsäure die für ein Protein oder Polypeptid kodiert, das eine Aminosäuresequenz umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus (SEQ ID NO: 10, 12-14), einem Teil oder Derivat davon.

10 In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung Promotorsequenzen von erfindungsgemäßen Nukleinsäuren. Diese können funktionell mit einem anderen Gen vorzugsweise in einem Expressionsvektor verbunden werden, und somit die selektive Expression dieses Gens in entsprechenden Zellen gewährleisten.

15 In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein rekombinantes Nukleinsäuremolekül, insbesondere DNA- oder RNA-Molekül, das eine erfindungsgemäße Nukleinsäure umfasst.

Die Erfindung betrifft auch Wirtszellen, die eine erfindungsgemäße Nukleinsäure oder ein rekombinantes Nukleinsäuremolekül, das eine erfindungsgemäße Nukleinsäure umfasst, enthalten.

20 Die Wirtszelle kann ferner eine Nukleinsäure umfassen, die für ein HLA-Molekül kodiert. In einer Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle das HLA-Molekül endogen. In einer weiteren Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle das HLA-Molekül und/oder die erfindungsgemäße Nukleinsäure oder einen Teil davon rekombinant. Vorzugsweise ist die
25 Wirtszelle nicht-proliferativ. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Wirtszelle eine Antigen-präsentierende Zelle, insbesondere eine dendritische Zelle, ein Monozyt oder ein Makrophage.

30 In einer weiteren Ausführungsform betrifft die Erfindung Oligonukleotide, die mit einer erfindungsgemäß identifizierten Nukleinsäure hybridisieren und als genetische Sonden oder als "Antisense"-Moleküle verwendet werden können. Nukleinsäuremoleküle in der Form von Oligonukleotid-Primern oder kompetenten Proben, die mit einer erfindungsgemäß identifizierten Nukleinsäure oder Teilen davon hybridisieren, können zum Auffinden von Nukleinsäuren verwendet werden, die zu der erfindungsgemäß identifizierten Nukleinsäure

homolog sind. PCR-Amplifikation, Southern- und Northern-Hybridisierung können zum Auffinden homologer Nukleinsäuren eingesetzt werden. Die Hybridisierung kann unter niedrig-, besser unter mittel- und am besten unter hoch-stringenten Bedingungen erfolgen. Der Begriff „stringente Bedingungen“ betrifft erfindungsgemäß Bedingungen, die eine spezifische Hybridisierung zwischen Polynukleotiden erlauben.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein Protein, Polypeptid oder Peptid das von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus (SEQ ID NO: 3-5), einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist, (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert, (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist. In einer bevorzugten Ausführungsform betrifft die Erfindung ein Protein oder Polypeptid oder Peptid, das eine Aminosäuresequenz umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus (SEQ ID NO: 10, 12-14), einem Teil oder Derivat davon.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein immunogenes Fragment eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens. Das Fragment bindet vorzugsweise an einen menschlichen HLA-Rezeptor oder menschlichen Antikörper. Vorzugsweise umfasst ein erfindungsgemäßes Fragment eine Sequenz von mindestens 6, insbesondere mindestens 8, mindestens 10, mindestens 12, mindestens 15, mindestens 20, mindestens 30 oder mindestens 50 Aminosäuren.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein Mittel, das an ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder an einen Teil davon bindet. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Mittel ein Antikörper. In weiteren Ausführungsformen ist der Antikörper ein chimärer, ein humanisierter oder mit kombinatorischen Techniken hergestellte Antikörper oder ein Fragment eines Antikörpers. Des weiteren betrifft die Erfindung einen Antikörper, der selektiv an einen Komplex aus (i) einem erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und (ii) einem MHC-Molekül bindet, an das das erfindungsgemäß identifizierte Tumor-assoziierte Antigen oder der Teil davon bindet, wobei der Antikörper nicht alleine an (i) oder (ii) bindet. Ein erfindungsgemäßer Antikörper kann ein monoklonaler Antikörper sein. In weiteren

Ausführungsformen ist der Antikörper ein chimärer oder humanisierter Antikörper oder ein Fragment eines natürlichen Antikörpers.

5 Des weiteren betrifft die Erfindung ein Konjugat zwischen einem erfindungsgemäßen Mittel, das an ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder an einen Teil davon bindet, oder einem erfindungsgemäßen Antikörper und einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel. In einer Ausführungsform ist das therapeutische oder diagnostische Mittel ein Toxin.

10 In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung einen Kit zum Nachweis der Expression oder abnormalen Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens, umfassend Mittel zum Nachweis (i) der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teils davon, (ii) des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon, (iii) von Antikörpern, die an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon binden, 15 und/oder (iv) von T-Zellen, die für einen Komplex zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem MHC-Molekül spezifisch sind. In einer Ausführungsform sind die Mittel zum Nachweis der Nukleinsäure oder des Teils davon Nukleinsäuremoleküle für die selektive Amplifikation der Nukleinsäure, die insbesondere eine Sequenz von 6-50, insbesondere 10-30, 15-30 und 20-30 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure 20 umfassen.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

25 Erfindungsgemäß werden Gene beschrieben, die in Tumorzellen selektiv exprimiert oder aberrant exprimiert werden und Tumor-assoziierte Antigene darstellen.

Erfindungsgemäß sind diese Gene oder ihre Derivate bevorzugte Zielstrukturen für therapeutische Ansätze. Konzeptionell können die therapeutischen Ansätze auf eine Hemmung der Aktivität des selektiv exprimierten tumor-assoziierten Genproduktes zielen. 30 Dies ist dann sinnvoll, wenn die aberrante respektive selektive Expression funktionell von tumorpathogenetischer Bedeutung ist und ihre Unterbindung mit einer selektiven Schädigung der entsprechenden Zellen einhergeht. Andere therapeutische Konzepte betrachten tumorassoziierte Antigene als Markierungen, die Effektormechanismen mit zellschädigendem

Potential selektiv zu Tumorzellen rekrutieren. Hierbei ist die Funktion des Zielmoleküls selbst und seine Rolle bei der Tumorentstehung vollkommen unerheblich.

5 Mit "Derivat" einer Nukleinsäure ist erfindungsgemäß gemeint, dass einzelne oder multiple Nukleotidsubstitution, -deletion und/oder -addition in der Nukleinsäure vorliegen. Weiterhin umfasst der Begriff „Derivat“ auch eine chemische Derivatisierung einer Nukleinsäure an einer Nukleotidbase, am Zucker oder am Phosphat. Der Begriff „Derivat“ umfasst auch Nukleinsäuren, die nicht in der Natur vorkommende Nukleotide und Nukleotidanaloga enthalten.

10 Eine Nukleinsäure ist erfindungsgemäß vorzugsweise Desoxyribonukleinsäure (DNA) oder Ribonukleinsäure (RNA). Nukleinsäuren umfassen erfindungsgemäß genomische DNA, cDNA, mRNA, rekombinant hergestellte und chemisch synthetisierte Moleküle. Eine Nukleinsäure kann erfindungsgemäß als einzelsträngiges oder doppelsträngiges und lineares
15 oder kovalent kreisförmig geschlossenes Molekül vorliegen.

20 Die erfindungsgemäß beschriebenen Nukleinsäuren sind vorzugsweise isoliert. Der Begriff "isolierte Nukleinsäure" bedeutet erfindungsgemäß, dass die Nukleinsäure (i) *in vitro* amplifiziert wurde, zum Beispiel durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR), (ii) rekombinant durch Klonierung produziert wurde, (iii) gereinigt wurde, zum Beispiel durch Spaltung und gelelektrophoretische Auftrennung oder (iv) synthetisiert wurde, zum Beispiel durch chemische Synthese. Eine isolierte Nukleinsäure ist eine Nukleinsäure, die für eine Manipulierung durch rekombinante DNA-Techniken zur Verfügung steht.

25 Eine Nukleinsäure ist dann zu einer anderen Nukleinsäure „komplementär“, wenn die beiden Sequenzen miteinander hybridisieren und ein stabiles Duplex eingehen können, wobei die Hybridisierung vorzugsweise unter Bedingungen erfolgt, die eine spezifische Hybridisierung zwischen Polynukleotiden erlauben (stringente Bedingungen). Stringente Bedingungen sind beispielsweise in Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook et al., Hrsg., 2.
30 Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989 oder Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel et al., Hrsg., John Wiley & Sons, Inc., New York beschrieben und betreffen beispielsweise die Hybridisierung bei 65°C in Hybridisierungspuffer (3,5 x SSC, 0,02% Ficoll, 0,02% Polyvinylpyrrolidon, 0,02% Rinderserumalbumin, 2,5mM NaH₂PO₄ (pH7), 0,5% SDS, 2mM EDTA). SSC ist 0,15 M

Natriumchlorid/ 0,15 M Natriumcitrat, pH 7. Nach der Hybridisierung wird die Membran, auf die die DNA übertragen wurde beispielsweise in 2 x SSC bei Raumtemperatur und sodann in 0,1 - 0,5 x SSC/ 0,1 x SDS bei Temperaturen bis 68°C gewaschen.

5 Komplementäre Nukleinsäuren weisen erfindungsgemäß mindestens 40%, insbesondere mindestens 50%, mindestens 60%, mindestens 70%, mindestens 80%, mindestens 90% und vorzugsweise mindestens 95%, mindestens 98 oder mindestens 99% Identität der Nukleotide auf.

10 Nukleinsäuren, die für Tumor-assoziierte Antigene kodieren, können erfindungsgemäß alleine oder in Kombination mit anderen Nukleinsäuren, insbesondere heterologen Nukleinsäuren, vorliegen. In bevorzugten Ausführungsformen liegt eine Nukleinsäure funktionell in Verbindung mit Expressionskontrollsequenzen oder regulatorischen Sequenzen vor, die in Bezug zu der Nukleinsäure homolog oder heterolog sein können. Eine kodierende Sequenz
15 und eine regulatorische Sequenz sind dann "funktionell" miteinander verbunden, falls sie derart kovalent miteinander verknüpft sind, dass die Expression oder Transkription der kodierenden Sequenz unter der Kontrolle oder unter dem Einfluss der regulatorischen Sequenz steht. Falls die kodierende Sequenz in ein funktionelles Protein translatiert werden soll, führt bei einer funktionellen Verbindung einer regulatorischen Sequenz mit der
20 kodierenden Sequenz eine Induktion der regulatorischen Sequenz zu einer Transkription der kodierenden Sequenz, ohne dass es zu einer Leserasterverschiebung in der kodierenden Sequenz oder zu einem Unvermögen der kodierenden Sequenz kommt, in das gewünschte Protein oder Peptid translatiert zu werden.

25 Der Begriff „Expressionskontrollsequenz“ oder „regulatorische Sequenz“ umfasst erfindungsgemäß Promotoren, Enhancer und andere Kontrollelemente, die die Expression eines Gens steuern. In bestimmten erfindungsgemäßen Ausführungsformen sind die Expressionskontrollsequenzen regulierbar. Die genaue Struktur von regulatorischen Sequenzen kann speziesabhängig oder zelltypusabhängig variieren, umfasst jedoch im
30 allgemeinen 5'-nicht-transkribierte und 5'-nicht-translatierte Sequenzen, die an der Initiation der Transkription bzw. Translation beteiligt sind wie TATA-Box, Capping-Sequenz, CAAT-Sequenz und ähnliches. Insbesondere umfassen 5'-nicht-transkribierte Regulationssequenzen eine Promotorregion, die eine Promotorsequenz für eine transkriptionelle Kontrolle des

funktionell verbundenen Gens einschließt. Regulatorische Sequenzen können auch Enhancer-Sequenzen oder stromaufwärts gelegene Aktivatorsequenzen umfassen.

5 Zum einen können also die hier dargestellten tumorassoziierten Antigene mit beliebigen Expressionskontrollsequenzen und Promotoren kombiniert werden. Zum anderen aber können erfindungsgemäß die Promotoren der hier dargestellten tumor-assoziierten Genprodukte mit beliebigen anderen Genen kombiniert werden. Dies erlaubt, die selektive Aktivität dieser Promotoren zu nutzen.

10 Des weiteren kann eine Nukleinsäure erfindungsgemäß in Verbindung mit einer anderen Nukleinsäure vorliegen, die für ein Polypeptid kodiert, das eine Sekretion des durch die Nukleinsäure kodierten Proteins oder Polypeptids aus einer Wirtszelle steuert. Auch kann eine Nukleinsäure erfindungsgemäß in Verbindung mit einer anderen Nukleinsäure vorliegen, die für ein Polypeptid kodiert, das eine Verankerung des kodierten Proteins oder Polypeptids auf
15 der Zellmembran der Wirtszelle oder seine Kompartimentalisierung in bestimmte Organellen dieser Zelle herbeiführt. Gleichermäßen kann eine Verbindung mit einer Nukleinsäure erfolgen, die ein Reportergen oder einen beliebigen „Tag“ darstellt.

20 In einer bevorzugten Ausführungsform ist ein rekombinantes DNA-Molekül erfindungsgemäß ein Vektor, gegebenenfalls mit einem Promotor, der die Expression einer Nukleinsäure, z.B. einer Nukleinsäure, die für eine erfindungsgemäßes Tumor-assoziiertes Antigen kodiert, steuert. Der Begriff „Vektor“ wird dabei in seiner allgemeinsten Bedeutung verwendet und umfasst jegliche intermediären Vehikel für eine Nukleinsäure, die es z.B. ermöglichen die Nukleinsäure in prokaryotische und/oder in eukaryotische Zellen einzubringen und
25 gegebenenfalls in ein Genom zu integrieren. Solche Vektoren werden vorzugsweise in der Zelle repliziert und/oder exprimiert. Ein intermediäres Vehikel kann z.B. für den Gebrauch bei der Elektroporation, beim Mikroprojektilbeschuss, bei der liposomalen Verabreichung, beim Transfer mit Hilfe von Agrobakterien oder bei der Insertion über DNA- oder RNA-Viren angepasst sein. Vektoren umfassen Plasmide, Phagemide oder Virusgenome.

30

Die Nukleinsäuren, die für ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen kodieren, können für eine Transfektion von Wirtszellen eingesetzt werden. Mit Nukleinsäuren ist dabei sowohl rekombinante DNA wie auch RNA gemeint. Rekombinante RNA kann durch in-vitro-Transkription von einer DNA-Matrize hergestellt werden. Sie kann des weiteren vor

Applikation durch stabilisierende Sequenzen, Capping und Poly-Adenylierung modifiziert werden. Der Begriff „Wirtszelle“ betrifft erfindungsgemäß jede Zelle, die mit einer exogenen Nukleinsäure transformierbar oder transfizierbar ist. Der Begriff „Wirtszellen“ umfasst erfindungsgemäß prokaryontische (z.B. *E. coli*) oder eukaryontische (z.B. dendritische Zellen, B-Zellen, CHO-Zellen, COS-Zellen, K562-Zellen, Hefezellen und Insektenzellen). Besonders bevorzugt sind Säugerzellen wie Zellen aus Mensch, Maus, Hamster, Schwein, Ziege, Primaten. Die Zellen können aus einer Vielzahl von Gewebetypen abgeleitet sein und umfassen primäre Zellen und Zelllinien. Spezifische Beispiele umfassen Keratinozyten, periphere Blutleukozyten, Stammzellen des Knochenmarks und embryonale Stammzellen. In weiteren Ausführungsformen ist die Wirtszelle eine Antigen-präsentierende Zelle, insbesondere eine dendritische Zelle, Monozyt oder ein Makrophage. Eine Nukleinsäure kann in der Wirtszelle in einer einzigen oder in mehreren Kopien vorliegen und wird in einer Ausführungsform in der Wirtszelle exprimiert.

15 Der Begriff „Expression“ wird erfindungsgemäß in seiner allgemeinsten Bedeutung verwendet und umfasst die Produktion von RNA oder von RNA und Protein. Er umfasst auch eine teilweise Expression von Nukleinsäuren. Des weiteren kann die Expression transient oder stabil erfolgen. Bevorzugte Expressionssysteme in Säugerzellen umfassen pcDNA3.1 und pRc/CMV (Invitrogen, Carlsbad, CA), die einen selektierbaren Marker enthalten wie ein Gen, das eine Resistenz gegenüber G418 verleiht (und somit eine Selektion stabil transfizierter Zelllinien ermöglicht) und die Enhancer-Promotor-Sequenzen von Cytomegalovirus (CMV).

25 In den Fällen der Erfindung, in denen ein HLA-Molekül ein Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon präsentiert, kann ein Expressionsvektor auch eine Nukleinsäuresequenz umfassen, das für das HLA-Molekül kodiert. Die Nukleinsäuresequenz, die für das HLA-Molekül kodiert, kann auf demselben Expressionsvektor wie die Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon kodiert, vorliegen oder beide Nukleinsäuren können auf verschiedenen Expressionsvektoren vorliegen. Im letzteren Fall können die beiden
30 Expressionsvektoren in eine Zelle cotransfiziert werden. Falls eine Wirtszelle weder das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon noch das HLA-Molekül exprimiert, werden beide dafür kodierenden Nukleinsäuren entweder auf demselben Expressionsvektor oder auf verschiedenen Expressionsvektoren in die Zelle transfiziert. Falls die Zelle bereits das HLA-

Molekül exprimiert, kann nur die Nukleinsäuresequenz, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon kodiert, in die Zelle transfiziert werden.

Erfindungsgemäß umfasst sind Kits zur Amplifikation einer Nukleinsäure, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen kodiert. Solche Kits umfassen beispielsweise ein Paar von Amplifikationsprimern, die an die Nukleinsäure hybridisieren, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert. Die Primer umfassen vorzugsweise eine Sequenz von 6-50, insbesondere 10-30, 15-30 und 20-30 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure und sind nicht-überlappend, um die Bildung von Primer-Dimeren zu vermeiden. Einer der Primer wird an einen Strang der Nukleinsäure hybridisieren, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, und der andere Primer wird an den komplementären Strang in einer Anordnung hybridisieren, die eine Amplifikation der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, erlaubt.

„Antisense“-Moleküle oder „Antisense“-Nukleinsäuren können zur Regulierung, insbesondere der Reduktion der Expression einer Nukleinsäure verwendet werden. Der Begriff "Antisense-Molekül" oder "Antisense-Nukleinsäure" betrifft erfindungsgemäß ein Oligonukleotid, das ein Oligoribonukleotid, Oligodesoxyribonukleotid, modifiziertes Oligoribonukleotid oder modifiziertes Oligodesoxyribonukleotid ist und das unter physiologischen Bedingungen an DNA, die ein bestimmtes Gen umfasst, oder mRNA dieses Gens hybridisiert, wodurch die Transkription dieses Gens und/oder die Translation dieser mRNA gehemmt wird. Ein "Antisense-Molekül" umfasst erfindungsgemäß auch ein Konstrukt, das eine Nukleinsäure oder einen Teil davon in reverser Orientierung in Bezug auf ihren natürlichen Promotor enthält. Ein Antisense-Transkript einer Nukleinsäure oder eines Teils davon kann eine Duplex mit der natürlich vorkommenden mRNA, die das Enzym spezifiziert, eingehen und so eine Akkumulation von oder die Translation der mRNA in das aktive Enzym verhindern. Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung von Ribozymen zur Inaktivierung einer Nukleinsäure. Bevorzugte erfindungsgemäße Antisense-Oligonukleotide weisen eine Sequenz von 6-50, insbesondere 10-30, 15-30 und 20-30 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Ziel-Nukleinsäure auf und sind vorzugsweise vollständig zu der Ziel-Nukleinsäure oder einem Teil davon komplementär.

In bevorzugten Ausführungsformen hybridisiert das Antisense-Oligonukleotid mit einer N-terminalen oder 5'-stromaufwärts gelegenen Stelle wie einer Translationsinitiations-

Transkriptionsinitiations- oder Promotorstelle. In weiteren Ausführungsformen hybridisiert das Antisense-Oligonukleotid mit einer 3'-nicht-translatierten Region oder mRNA-Splicing-Stelle.

5 In einer Ausführungsform besteht ein erfindungsgemäßes Oligonukleotid aus Ribonukleotiden, Desoxyribonukleotiden oder einer Kombination davon. Dabei sind das 5'-Ende eines Nukleotids und das 3'-Ende eines anderen Nukleotids durch eine Phosphodiesterbindung miteinander verknüpft. Diese Oligonukleotide können in herkömmlicher Weise synthetisiert oder rekombinant produziert werden.

In bevorzugten Ausführungsformen ist ein erfindungsgemäßes Oligonukleotid ein "modifiziertes" Oligonukleotid. Dabei kann das Oligonukleotid, um beispielsweise seine Stabilität oder therapeutische Wirksamkeit zu erhöhen, auf verschiedenste Art und Weise modifiziert sein ohne dass seine Fähigkeit, an sein Ziel zu binden, beeinträchtigt wird. Der
15 Begriff "modifiziertes Oligonukleotid" bedeutet erfindungsgemäß ein Oligonukleotid bei dem (i) mindestens zwei seiner Nukleotide durch eine synthetische Internukleosidbindung (d.h. eine Internukleosidbindung, die keine Phosphodiesterbindung ist) miteinander verknüpft sind und/oder (ii) eine chemische Gruppe kovalent mit dem Oligonukleotid verbunden ist, die normalerweise nicht bei Nukleinsäuren auftritt. Bevorzugte synthetische Internukleosidbindungen sind Phosphorothioate, Alkylphosphonate, Phosphorodithioate, Phosphatester, Alkylphosphonothioate, Phosphoramidate, Carbamate, Carbonate, Phosphattriester, Acetamidate, Carboxymethylester und Peptide.

Der Begriff "modifiziertes Oligonukleotid" umfasst auch Oligonukleotide mit einer kovalent
25 modifizierten Base und/oder Zucker. "Modifizierte Oligonukleotide" umfassen beispielsweise Oligonukleotide mit Zuckerresten, die kovalent an organische Gruppen mit einem geringen Molekulargewicht gebunden sind, die keine Hydroxylgruppe an der 3'-Position und keine Phosphatgruppe an der 5'-Position sind. Modifizierte Oligonukleotide können beispielsweise einen 2'-O-alkylierten Riboserest oder einen anderen Zucker anstelle von Ribose wie
30 Arabinose umfassen.

Die erfindungsgemäß beschriebenen Proteine und Polypeptide sind vorzugsweise isoliert. Die Begriffe "isoliertes Protein" oder "isoliertes Polypeptid" bedeuten, dass das Protein oder Polypeptid von seiner natürlichen Umgebung getrennt ist. Ein isoliertes Protein oder

Polypeptid kann in einem im wesentlichen aufgereinigten Zustand vorliegen. Der Begriff "im wesentlichen aufgereinigt" bedeutet, dass das Protein oder Polypeptid im wesentlichen frei von anderen Substanzen vorliegt, mit denen es in der Natur oder *in vivo* vorliegt.

- 5 Solche Proteine und Polypeptide dienen beispielsweise der Herstellung von Antikörpern und sind in einem immunologischen oder diagnostischen Assay oder als Therapeutika einsetzbar. Erfindungsgemäß beschriebene Proteine und Polypeptide können aus biologischen Proben wie Gewebe- oder Zellhomogenaten isoliert werden und können auch rekombinant in einer Vielzahl pro- oder eukaryontischer Expressionssysteme exprimiert werden.

„Derivate“ eines Proteins oder Polypeptids oder einer Aminosäuresequenz im Sinne dieser Erfindung umfassen Aminosäure-Insertionsvarianten, Aminosäure-Deletionsvarianten und/oder Aminosäure-Substitutionsvarianten.

- 15 Aminosäure-Insertionsvarianten umfassen amino- und/oder carboxyterminale Fusionen, sowie Insertionen von einzelnen oder mehreren Aminosäuren in einer bestimmten Aminosäuresequenz. Bei Aminosäure-Sequenzvarianten mit einer Insertion werden ein oder mehrere Aminosäurereste in eine vorbestimmte Stelle in einer Aminosäuresequenz eingebracht, obwohl eine zufällige Insertion mit geeignetem Screening des resultierenden Produkts auch möglich ist. Aminosäure-Deletionsvarianten sind durch das Entfernen von einer oder mehreren Aminosäuren aus der Sequenz charakterisiert. Aminosäure-Substitutionsvarianten zeichnen sich dadurch aus, dass wenigstens ein Rest in der Sequenz entfernt und ein anderer Rest an dessen Stelle eingefügt wird. Vorzugsweise befinden sich die Modifikationen an Positionen in der Aminosäuresequenz, die zwischen homologen Proteinen oder Polypeptiden nicht konserviert sind. Vorzugsweise werden Aminosäuren durch andere mit ähnlichen Eigenschaften ersetzt, wie Hydrophobizität, Hydrophilizität, Elektronegativität, Volumen der Seitenkette und ähnliches (konservative Substitution). Konservative Substitutionen betreffen beispielsweise den Austausch einer Aminosäure durch eine andere, nachstehend in derselben Gruppe wie die substituierte Aminosäure aufgeführte Aminosäure:

30

1. kleine aliphatische, nicht-polare oder leicht-polare Reste: Ala, Ser, Thr (Pro, Gly)
2. negativ geladene Reste und ihre Amide: Asn, Asp, Glu, Gln
3. positiv geladene Reste: His, Arg, Lys
4. große aliphatische, nicht-polare Reste: Met, Leu, Ile, Val (Cys)

5. große aromatische Reste: Phe, Tyr, Trp.

Drei Reste sind aufgrund ihrer besonderen Rolle für die Proteinarchitektur in Klammern gesetzt. Gly ist der einzige Rest ohne eine Seitenkette und verleiht der Kette somit Flexibilität. Pro besitzt eine ungewöhnliche Geometrie, die die Kette stark einschränkt. Cys kann eine Disulfidbrücke bilden.

Die oben beschriebenen Aminosäure-Varianten können leicht mit Hilfe von bekannten Peptidsynthesetechniken wie z.B. durch „Solid Phase Synthesis“ (Merrifield, 1964) und ähnliche Verfahren oder durch rekombinante DNA-Manipulation hergestellt werden. Techniken, um Substitutionsmutationen an vorbestimmten Stellen in DNA einzubringen, die eine bekannte oder teilweise bekannte Sequenz besitzt, sind gut bekannt und umfassen z.B. M13-Mutagenese. Die Manipulation von DNA-Sequenzen zur Herstellung von Proteinen mit Substitutionen, Insertionen oder Deletionen ist z.B. in Sambrook et. al. (1989) ausführlich beschrieben.

„Derivate“ von Proteinen, Polypeptiden oder Peptiden umfassen erfindungsgemäß auch einzelne oder multiple Substitutionen, Deletionen und/oder Additionen jeglicher Moleküle, die mit dem Enzym assoziiert sind, wie Kohlenhydrate, Lipide und/oder Proteine, Polypeptide oder Peptide. Ferner erstreckt sich der Begriff „Derivat“ auch auf alle funktionellen chemischen Äquivalente der Proteine, Polypeptide oder Peptide.

Ein Teil oder Fragment eines Tumor-assoziierten Antigens weist erfindungsgemäß eine funktionelle Eigenschaft des Polypeptids auf, aus dem es abgeleitet sind. Solche funktionellen Eigenschaften umfassen die Interaktion mit Antikörpern, die Interaktion mit anderen Polypeptiden oder Proteinen, die selektive Bindung von Nukleinsäuren und eine enzymatische Aktivität. Eine bedeutende Eigenschaft ist die Fähigkeit, einen Komplex mit HLA einzugehen und gegebenenfalls eine Immunreaktion zu erzeugen. Diese Immunreaktion kann auf Stimulation von cytotoxischen oder Helfer T-Zellen beruhen. Vorzugsweise umfasst ein erfindungsgemäßer Teil oder Fragment eines Tumor-assoziierten Antigens eine Sequenz von mindestens 6, insbesondere mindestens 8, mindestens 10, mindestens 12, mindestens 15, mindestens 20, mindestens 30 oder mindestens 50 aufeinanderfolgenden Aminosäuren aus dem Tumor-assoziierten Antigen.

Ein Teil oder ein Fragment einer Nukleinsäure, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen kodiert, betrifft erfindungsgemäß den Teil der Nukleinsäure, der zumindest für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert und/oder für einen Teil oder ein Fragment des Tumor-assoziierten Antigens wie vorstehend definiert kodiert.

5

Die Isolierung und Identifizierung von Genen, die für Tumor-assoziierte Antigene kodieren, ermöglicht auch die Diagnose einer Erkrankung, die sich durch die Expression von einem oder mehreren Tumor-assoziierten Antigenen auszeichnet. Diese Verfahren umfassen die Bestimmung einer oder mehrerer Nukleinsäuren, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen 10 kodieren, und/oder die Bestimmung der kodierten Tumor-assoziierten Antigene und/oder von davon abgeleiteten Peptiden. Eine Bestimmung der Nukleinsäure kann in herkömmlicher Weise erfolgen, einschließlich durch Polymerase-Kettenreaktion oder Hybridisierung mit einer markierten Sonde. Eine Bestimmung von Tumor-assoziierten Antigenen oder davon 15 abgeleiteten Peptiden kann durch ein Screening von Patienten-Antisera in Bezug auf eine Erkennung des Antigens und/oder der Peptide erfolgen. Sie kann auch erfolgen durch ein Screening von T-Zellen des Patienten auf Spezifität für das entsprechende tumor-assoziierte Antigen.

Die vorliegende Erfindung ermöglicht auch die Isolierung von Proteinen, die an hier 20 beschriebene Tumor-assoziierte Antigene binden, einschließlich Antikörper und zelluläre Bindepartner der Tumor-assoziierten Antigene.

Erfindungsgemäß werden auch in bestimmten Ausführungsformen "dominant negative" Polypeptide bereitgestellt, die von Tumor-assoziierten Antigenen abgeleitet sind. Ein 25 dominant negatives Polypeptid ist eine inaktive Variante eines Proteins, die durch Interaktion mit der zellulären Maschinerie ein aktives Protein von seiner Interaktion mit der zellulären Maschinerie verdrängt oder mit dem aktiven Protein kompetitiert, wodurch die Wirkung des aktiven Proteins verringert wird. Zum Beispiel kann ein dominant negativer Rezeptor, der einen Liganden bindet, jedoch kein Signal in Reaktion auf die Bindung des Liganden erzeugt, 30 die biologische Wirkung des Liganden verringern. In ähnlicher Weise kann eine dominant negative katalytisch-inaktive Kinase, die normalerweise mit Zielproteinen interagiert, jedoch die Zielproteine nicht phosphoryliert, die Phosphorylierung der Zielproteine in Reaktion auf ein zelluläres Signal verringern. In ähnlicher Weise kann ein dominant negativer Transkriptionsfaktor, der an eine Promotorstelle in der Kontrollregion eines Gens bindet,

jedoch die Transkription des Gens nicht erhöht, die Wirkung eines normalen Transkriptionsfaktors durch die Besetzung von Promotorbindestellen ohne eine Erhöhung der Transkription verringern.

- 5 Das Ergebnis der Expression eines dominant negativen Polypeptids in einer Zelle ist eine Verringerung der Funktion aktiver Proteine. Der Fachmann kann dominant negative Varianten eines Proteins beispielsweise durch herkömmliche Mutageneseverfahren und Bewerten der dominant negativen Wirkung des Varianten-Polypeptids herstellen.

- 1 Erfindungsgemäß umfasst sind auch Stoffe wie Polypeptide, die an Tumor-assoziierte Antigene binden. Solche Bindestoffe können z.B. in Screening-Assays für einen Nachweis von Tumor-assoziierten Antigenen und Komplexen von Tumor-assoziierten Antigenen mit ihren Bindepateern sowie bei einer Aufreinigung der Tumor-assoziierten Antigene und von Komplexen davon mit ihren Bindepateern Verwendung finden. Solche Stoffe können auch
15 für eine Hemmung der Aktivität Tumor-assoziiierter Antigene beispielsweise durch Bindung an solche Antigene Verwendung finden.

- Erfindungsgemäß umfasst sind daher Bindestoffe wie z.B. Antikörper oder Antikörperfragmente, die die Fähigkeit aufweisen, selektiv an Tumor-assoziierte Antigene zu
2 binden. Antikörper umfassen polyklonale und monoklonale Antikörper, die in herkömmlicher Weise hergestellt werden.

- Es ist bekannt, dass nur ein kleiner Teil eines Antikörpermoleküls, das Paratop, an der Bindung des Antikörpers an sein Epitop beteiligt ist (vgl. Clark, W.R. (1986), *The*
25 *Experimental Foundations of Modern Immunology*, Wiley & Sons, Inc., New York; Roitt, I. (1991), *Essential Immunology*, 7. Auflage, Blackwell Scientific Publications, Oxford). Die pFc'- und Fc-Regionen sind z.B. Effektoren der Komplementkaskade, sind jedoch nicht an der Antigenbindung beteiligt. Ein Antikörper, von dem die pFc'-Region enzymatisch abgespalten wurde oder der ohne die pFc'-Region hergestellt wurde, bezeichnet als F(ab')₂-Fragment, trägt
30 beide Antigenbindestellen eines vollständigen Antikörpers. In ähnlicher Weise trägt ein Antikörper, von dem die Fc-Region enzymatisch abgespalten wurde oder der ohne die Fc-Region hergestellt wurde, bezeichnet als Fab-Fragment, eine Antigenbindestelle eines intakten Antikörpermoleküls. Des weiteren bestehen Fab-Fragmente aus einer kovalent gebundenen leichten Kette eines Antikörpers und einem Teil der schweren Kette des

Antikörpers, bezeichnet als Fd. Die Fd-Fragmente sind die Haupt-Determinanten der Antikörper-Spezifität (ein einzelnes Fd-Fragment kann mit bis zu zehn verschiedenen leichten Ketten assoziiert werden, ohne die Spezifität des Antikörpers zu verändern) und Fd-Fragmente behalten bei einer Isolierung die Fähigkeit, an ein Epitop zu binden.

5

Innerhalb des Antigen-bindenden Teils eines Antikörpers befinden sich komplementaritätsbestimmende Regionen (CDRs), die direkt mit dem Epitop des Antigens wechselwirken, und Gerüstregionen (FRs), die die Tertiärstruktur des Paratops aufrechterhalten. Sowohl in dem Fd-Fragment der schweren Kette als auch in der leichten Kette von IgG-Immunglobulinen befinden sich vier Gerüstregionen (FR1 bis FR4), die jeweils durch drei komplementaritätsbestimmende Regionen (CDR1 bis CDR3) getrennt sind. Die CDRs und insbesondere die CDR3-Regionen und noch mehr die CDR3-Region der schweren Kette sind größtenteils für die Antikörper-Spezifität verantwortlich.

15 Man weiß, dass die Nicht-CDR-Regionen eines Säuger-Antikörpers durch ähnliche Regionen von Antikörpern mit der gleichen oder einer anderen Spezifität ersetzt werden können, wobei die Spezifität für das Epitop des ursprünglichen Antikörpers erhalten bleibt. Dies ermöglichte die Entwicklung sogenannter "humanisierter" Antikörper, bei denen nicht-menschliche CDRs kovalent mit menschlichen FR- und/oder Fc/pFc'-Regionen für die Herstellung eines funktionellen Antikörpers verbunden sind.

Zum Beispiel beschreibt die WO 92/04381 die Herstellung und Verwendung von humanisierten RSV-Antikörpern aus Maus, bei denen mindestens ein Teil der FR-Regionen aus Maus durch FR-Regionen eines menschlichen Ursprungs ersetzt wurden. Solche
25 Antikörper, einschließlich Fragmente intakter Antikörper mit einer Antigen-Bindfähigkeit werden oft als "chimäre" Antikörper bezeichnet.

Erfindungsgemäß werden auch F(ab')₂-, Fab-, Fv- und Fd-Fragmente von Antikörpern, chimäre Antikörper, bei denen die Fc- und/oder FR- und/oder CDR1- und/oder CDR2- und/oder leichte Kette-CDR3-Regionen durch homologe menschliche oder nicht-menschliche Sequenzen ersetzt wurden, chimäre F(ab')₂-Fragment-Antikörper, bei denen die FR- und/oder CDR1- und/oder CDR2- und/oder leichte Kette-CDR3-Regionen durch homologe menschliche oder nicht-menschliche Sequenzen ersetzt wurden, chimäre Fab-Fragment-Antikörper, bei denen die FR- und/oder CDR1- und/oder CDR2- und/oder leichte Kette-
30

CDR3-Regionen durch homologe menschliche oder nicht-menschliche Sequenzen ersetzt wurden, und chimäre Fd-Fragment-Antikörper, bei denen die FR- und/oder CDR1- und/oder CDR2-Regionen durch homologe menschliche oder nicht-menschliche Sequenzen ersetzt wurden, bereitgestellt. Erfindungsgemäß umfasst sind auch sogenannte einzelkettige
5 Antikörper.

Erfindungsgemäß umfasst sind auch Polypeptide, die spezifisch an Tumor-assoziierte Antigene binden. Beispielsweise können solche Polypeptid-Bindestoffe durch degenerierte Peptid-Bibliotheken bereitgestellt werden, die einfach in Lösung in einer immobilisierten
1 Form oder als Phagen-Display-Bibliotheken hergestellt werden können. Kombinatorische Bibliotheken aus Peptiden mit einer oder mehreren Aminosäuren können ebenfalls hergestellt werden. Ferner können Bibliotheken aus Peptoiden und nicht-peptidischen synthetischen
Resten hergestellt werden.

15 Phagen-Display kann besonders wirksam bei der Identifizierung erfindungsgemäßer Bindepeptide sein. Dabei wird beispielsweise eine Phagen-Bibliothek (durch Verwendung beispielsweise des m13-, fd- oder lambda-Phagen) hergestellt, die Inserts einer Länge von 4 bis etwa 80 Aminosäureresten präsentiert. Es werden sodann Phagen ausgewählt, die Inserts tragen, die an das Tumor-assoziierte Antigen binden. Dieser Prozess kann über mehrere
2 Zyklen einer Rückselektion von Phagen wiederholt werden, die an das Tumor-assoziierte Antigen binden. Wiederholte Runden führen zu einer Anreicherung von Phagen, die bestimmte Sequenzen tragen. Es kann eine Analyse von DNA-Sequenzen erfolgen, um die
Sequenzen der exprimierten Polypeptide zu identifizieren. Der kleinste lineare Anteil der Sequenz, der an das Tumor-assoziierte Antigen bindet, kann bestimmt werden. Das "two-
25 hybrid-System" aus Hefe kann auch für die Identifizierung von Polypeptiden eingesetzt werden, die an ein Tumor-assoziiertes Antigen binden. Erfindungsgemäß beschriebene Tumor-assoziierte Antigene oder Fragmente davon können für ein Screening von Peptid-Bibliotheken, einschließlich Phagen-Display-Bibliotheken, eingesetzt werden, um Peptid-Bindepartner der Tumor-assoziierten Antigene zu identifizieren und selektieren. Solche
30 Moleküle können beispielsweise für Screening-Assays, Aufreinigungsprotokolle, für eine Interferenz mit der Funktion des Tumor-assoziierten Antigens und für andere Zwecke, die dem Fachmann bekannt sind, verwendet werden.

Die vorstehend beschriebenen Antikörper und andere Bindemoleküle können beispielsweise für die Identifizierung von Gewebe verwendet werden, das ein Tumor-assoziiertes Antigen exprimiert. Antikörper können auch an spezifische diagnostische Stoffe für eine Darstellung von Zellen und Geweben gekoppelt werden, die Tumor-assoziierte Antigene exprimieren. Sie können ferner an therapeutisch nützliche Stoffe gekoppelt werden. Diagnostische Stoffe umfassen in nicht begrenzender Weise Bariumsulfat, Iocetaminsäure, Iopansäure, Calcium-Ipodat, Natrium-Diatrizoat, Meglumin-Diatrizoat, Metrizamid, Natrium-Tyropanoat und Radiodiagnostika, einschließlich Positronen-Emitter wie Fluorin-18 und Carbon-11, gamma-Emitter wie Iodin-123, Technitium-99m, Iod-131 und Indium-111, Nuklide für magnetische Kernresonanz wie Fluorin und Gadolinium. Der Begriff "therapeutisch nützlicher Stoff" meint erfindungsgemäß jedes therapeutische Molekül, das wunschgemäß selektiv zu einer Zelle geführt wird, die ein oder mehrere Tumor-assoziierte Antigene exprimiert, einschließlich Antikrebsmittel, mit radioaktivem Iod versehene Verbindungen, Toxine, cytostatische oder cytolytische Arzneistoffe, usw. Antikrebsmittel umfassen beispielsweise Aminoglutethimid, Azathioprin, Bleomycinsulfat, Busulfan, Carmustin, Chlorambucil, Cisplatin, Cyclophosphamid, Cyclosporin, Cytarabidin, Dacarbazin, Dactinomycin, Daunorubin, Doxorubicin, Taxol, Etoposid, Fluoruracil, Interferon- α , Lomustin, Mercaptopurin, Methotrexat, Mitotan, Procarbazin-HCl, Thioguanin, Vinblastinsulfat und Vincristinsulfat. Weitere Antikrebsmittel sind beispielsweise in Goodman und Gilman, "The Pharmacological Basis of Therapeutics", 8. Auflage, 1990, McGraw-Hill, Inc., insbesondere Kapitel 52 (Antineoplastic Agents (Paul Calabresi und Bruce A. Chabner) beschrieben. Toxine können Proteine wie Pokeweed-antivirales Protein, Cholera-toxin, Pertussistoxin, Ricin, Gelonin, Abrin, Diphtherie-Exotoxin oder *Pseudomonas*-Exotoxin sein. Toxinreste können auch Hochenergie-emittierende Radionuklide wie Kobalt-60 sein.

Der Begriff "Patient" bedeutet erfindungsgemäß Mensch, nicht menschlicher Primat oder ein anderes Tier, insbesondere Säugetier wie Kuh, Pferd, Schwein, Schaf, Ziege, Hund, Katze oder Nagetier wie Maus und Ratte. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist der Patient ein Mensch.

Der Begriff "Erkrankung" betrifft erfindungsgemäß jeden pathologischen Zustand, bei dem Tumor-assoziierte Antigene exprimiert oder abnormal exprimiert werden. „Abnormale Expression“ bedeutet erfindungsgemäß, dass die Expression gegenüber dem Zustand bei einem gesunden Individuum verändert, vorzugsweise erhöht ist. Eine Erhöhung der

Expression betrifft eine Erhöhung um mindestens 10%, insbesondere mindestens 20%, mindestens 50% oder mindestens 100%. In einer Ausführungsform wird das Tumor-assoziierte Antigen nur in Gewebe eines erkrankten Individuums exprimiert, während die Expression bei einem gesunden Individuum reprimiert ist. Ein Beispiel einer solchen

5 Erkrankung ist Krebs, insbesondere Seminome, Melanome, Teratome, Gliome, Gastrointestinal, Kolorektal-, Pankreas-, Hals, Nasen, Ohren (HNO)- Brust-, Prostata-, Gebärmutter-, Ovarial-, und Lungenkrebs.

Eine biologische Probe kann erfindungsgemäß eine Gewebe- und/oder zelluläre Probe sein und kann für eine Verwendung in den verschiedenen, hier beschriebenen Verfahren in herkömmlicher Weise gewonnen werden, wie durch Gewebebiopsie, einschließlich

10 Stanzbiopsie, und Entnahme von Blut, Bronchialaspirat, Sputum, Urin, Fäces oder anderen Körperflüssigkeiten.

Der Begriff "immunreaktive Zelle" bedeutet erfindungsgemäß eine Zelle, die in eine Immunzelle (wie B-Zelle, T-Helferzelle oder cytolytische T-Zelle) bei geeigneter Stimulierung reifen kann. Immunreaktive Zellen umfassen CD34⁺ hämatopoietische Stammzellen, unreife und reife T-Zellen sowie unreife und reife B-Zellen. Falls die Herstellung cytolytischer oder Helfer T-Zellen, die ein Tumor-assoziiertes Antigen erkennen,

20 gewünscht ist, wird die immunreaktive Zelle mit einer Zelle, die ein Tumor-assoziiertes Antigen exprimiert, unter Bedingungen in Kontakt gebracht, die eine Produktion, Differenzierung und/oder Selektion von cytolytischen sowie Helfer T-Zellen begünstigen. Die Differenzierung von T-Zell-Vorläufern in eine cytolytische T-Zelle bei einer Exposition gegenüber einem Antigen ist ähnlich zur klonalen Selektion des Immunsystems.

Manche therapeutische Verfahren beruhen auf einer Reaktion des Immunsystems eines Patienten, die zu einer Lyse Antigen-präsentierender Zellen führt, wie Krebszellen, die ein oder mehrere Tumor-assoziierte Antigene präsentieren. Dabei werden beispielsweise autologe cytotoxische T-Lymphozyten, die für einen Komplex aus einem Tumor-assoziierten Antigen

25 und einem MHC-Molekül spezifisch sind, an einen Patienten mit einer Zellabnormalie verabreicht. Die Produktion solcher cytotoxischer T-Lymphozyten *in vitro* ist bekannt. Ein Beispiel für ein Verfahren zur Differenzierung von T-Zellen findet sich in der WO-A-9633265. Im Allgemeinen wird eine Probe mit Zellen wie Blutzellen aus dem Patienten entnommen und die Zellen werden mit einer Zelle in Kontakt gebracht, die den Komplex

30

präsentiert und eine Vermehrung von cytotoxischen T-Lymphozyten auslösen kann (z.B. dendritische Zellen). Die Zielzelle kann eine transfizierte Zelle wie eine COS-Zelle sein. Diese transfizierten Zellen präsentieren den gewünschten Komplex auf ihrer Oberfläche und stimulieren bei einer Kontaktierung mit cytotoxischen T-Lymphozyten deren Vermehrung.

5 Die klonal expandierten autologen cytotoxischen T-Lymphozyten werden sodann an den Patienten verabreicht.

Bei einem anderen Verfahren zur Selektion Antigen-spezifischer cytotoxischer T-Lymphozyten werden fluorogene Tetramere von MHC-Klasse I-Molekül/Peptid-Komplexen für einen Nachweis spezifischer Klone von cytotoxischen T-Lymphozyten verwendet (Altman et al., *Science* 274:94-96, 1996; Dunbar et al., *Curr. Biol.* 8:413-416, 1998). Lösliche MHC-Klasse I-Moleküle werden *in vitro* in Gegenwart von β_2 -Mikroglobulin und eines Peptid-Antigens, das an das Klasse I-Molekül bindet, gefaltet. Nach Aufreinigung der MHC/Peptid-Komplexe werden diese mit Biotin markiert. Tetramere werden durch Mischen der biotinylierten Peptid-MHC-Komplexe mit markiertem Avidin (z.B. Phycoerythrin) bei einem molaren Verhältnis von 4:1 gebildet. Tetramere werden sodann mit cytotoxischen T-Lymphozyten wie peripherem Blut oder Lymphknoten in Kontakt gebracht. Die Tetramere binden an cytotoxische T-Lymphozyten, die den Peptid-Antigen/MHC-Klasse I-Komplex erkennen. Zellen, die an die Tetramere gebunden werden, können durch Fluoreszenz-gesteuerte Zellsortierung für eine Isolierung reaktiver cytotoxischer T-Lymphozyten sortiert werden. Die isolierten cytotoxischen T-Lymphozyten können sodann *in vitro* vermehrt werden.

Bei einem therapeutischen Verfahren, das als adoptiver Transfer bezeichnet wird (Greenberg, *J. Immunol.* 136(5):1917, 1986; Riddel et al., *Science* 257:238, 1992; Lynch et al., *Eur. J. Immunol.* 21:1403-1410, 1991; Kast et al., *Cell* 59:603-614, 1989), werden Zellen, die den gewünschten Komplex präsentieren (z.B. dendritische Zellen) mit cytotoxischen T-Lymphozyten des zu behandelnden Patienten kombiniert, was zu einer Vermehrung spezifischer cytotoxischer T-Lymphozyten führt. Die vermehrten cytotoxischen T-Lymphozyten werden sodann an einen Patienten mit einer zellulären Abnormalie verabreicht, die sich durch bestimmte abnormale Zellen auszeichnet, die den spezifischen Komplex präsentieren. Die cytotoxischen T-Lymphozyten lysieren sodann die abnormalen Zellen, wodurch eine gewünschte therapeutische Wirkung erreicht wird.

Oft lassen sich aus dem T-Zell-Repertoire eines Patienten lediglich niedrig-affine T-Zellen gegen einen solchen spezifischen Komplex vermehren, da die hochaffinen durch Toleranzentwicklung ausgelöscht worden sind. Eine Alternative kann hier ein Transfer des T-Zell-Rezeptors selbst sein. Hierfür werden ebenfalls Zellen, die den gewünschten Komplex präsentieren (z.B. dendritische Zellen) mit cytotoxischen T-Lymphozyten von gesunden Personen oder von einer anderen Spezies (z.B. Maus) kombiniert. Dies führt zu einer Vermehrung hochaffiner spezifischer cytotoxischer T-Lymphozyten, wenn die T-Lymphozyten aus einem Spenderorganismus kommen, der mit dem spezifischen Komplex bisher keinen Kontakt hatte. Der hochaffine T-Zell-Rezeptor aus diesen vermehrten spezifischen T-Lymphozyten wird kloniert. Wurden die hochaffinen T-Zellrezeptoren aus einer anderen Spezies kloniert, können diese in unterschiedlichem Ausmaß humanisiert werden. Durch Gentransfer z.B. mit retroviralen Vektoren werden solche T-Zellrezeptoren dann beliebig in T-Zellen von Patienten transduziert. Adoptiver Transfer erfolgt dann mit diesen genetisch veränderten T-Lymphozyten (Stanislawski et al., Nat Immunol. 2:962-70, 2001 ; Kessels et al., Nat Immunol. 2:957-61, 2001).

Die vorstehenden therapeutischen Aspekte gehen davon aus, dass zumindest manche der abnormalen Zellen des Patienten einen Komplex aus einem Tumor-assoziierten Antigen und einem HLA-Molekül präsentieren. Eine Identifizierung solcher Zellen kann in an sich bekannter Weise erfolgen. Sobald Zellen, die den Komplex präsentieren, identifiziert wurden, können sie mit einer Probe aus dem Patienten, die cytotoxische T-Lymphozyten enthält, kombiniert werden. Falls die Zellen, die den Komplex präsentieren, durch die cytotoxischen T-Lymphozyten lysiert werden, kann angenommen werden, dass ein Tumor-assoziiertes Antigen präsentiert wird.

Der adoptive Transfer ist nicht die einzige Therapieform, die erfindungsgemäß anwendbar ist. Cytotoxische T-Lymphozyten können auch *in vivo* in an sich bekannter Weise erzeugt werden. Bei einem Verfahren werden nicht-proliferative Zellen verwendet, die den Komplex exprimieren. Die Zellen, die dabei verwendet werden, werden diejenigen sein, die normalerweise den Komplex exprimieren, wie bestrahlte Tumorzellen oder Zellen, die mit einem oder beiden Genen transfiziert wurden, die für eine Präsentation des Komplexes notwendig sind (d.h. das Antigene Peptid und das präsentierende HLA-Molekül). Verschiedene Zelltypen können eingesetzt werden. Des weiteren können Vektoren verwendet werden, die eines oder beide der interessierenden Gene tragen. Virale oder bakterielle

Vektoren sind besonders bevorzugt. Zum Beispiel können Nukleinsäuren, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon kodieren, funktionell mit Promotor- und Enhancersequenzen verknüpft werden, die eine Expression des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Fragments davon in bestimmten Geweben oder Zelltypen steuern. Die Nukleinsäure kann in einen Expressionsvektor eingebaut werden. Expressionsvektoren können nicht-modifizierte extrachromosomale Nukleinsäuren, Plasmide oder virale Genome sein, in die eine Insertion exogener Nukleinsäuren möglich ist. Nukleinsäuren, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen kodieren, können auch in ein retrovirales Genom inseriert werden, wodurch die Integration der Nukleinsäure in das Genom des Zielgewebes oder der Zielzelle ermöglicht wird. Bei diesen Systemen trägt ein Mikroorganismus wie Vacciniavirus, Poxvirus, Herpes simplex-Virus, Retrovirus oder Adenovirus das interessierende Gen und "infiziert" de facto Wirtszellen. Eine weitere bevorzugte Form ist die Einbringung des tumor-assoziierten Antigenes in Form von rekombinanter RNA. Diese kann z.B. durch liposomalen Transfer oder durch Elektroporation in Zellen eingebracht werden. Die resultierenden Zellen präsentieren den interessierenden Komplex und werden von autologen cytotoxischen T-Lymphozyten erkannt, die sich sodann vermehren.

Eine ähnliche Wirkung kann durch Kombination des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Fragments davon mit einem Adjuvans erreicht werden, um einen Einbau in Antigen-präsentierende Zellen *in vivo* zu ermöglichen. Das tumor-assoziierte Antigen oder ein Fragment davon können als Protein, als DNA (z.B. innerhalb eines Vektors) oder als RNA repräsentiert sein. Das Tumor-assoziierte Antigen wird prozessiert, um einen Peptidpartner für das HLA-Molekül zu ergeben, während ein Fragment davon präsentiert werden kann, ohne dass eine weitere Prozessierung erforderlich ist. Letzteres ist insbesondere der Fall, wenn diese and HLA-Moleküle binden können. Verabreichungsformen, bei denen das Gesamt-Antigen *in vivo* von einer Dendritischen Zelle prozessiert wird, sind bevorzugt, da hier auch Helfer T-Zell-Antworten entstehen können. Eine effektive Immunantwort benötigt diese (Ossendorp et al, *Immunol Lett.* 74:75-9, 2000; Ossendorp et al, *J. Exp. Med.* 187:693-702, 1998). Im allgemeinen kann eine wirksame Menge des Tumor-assoziierten Antigens an einen Patienten z.B. durch eine intradermale Injektion verabreicht werden. Die Injektion kann aber auch intranodal in einen Lymphknoten erfolgen (Maloy et al, *Proc Natl Acad Sci USA* 98:3299-303, 2001). Sie kann auch in Kombination mit Reagenzien erfolgen, die eine Aufnahme in Dendritische Zellen erleichtern. Bevorzugte Tumor-assoziierte Antigene umfassen diejenigen, die mit allogenen Krebs-Antisera oder mit T-Zellen vieler Krebs-

Patienten reagieren. Von besonderem Interesse sind aber auch solche, gegen die keine spontanen Immunantworten vorbestehen. Gegen diese können nachweislich Immunantworten induziert werden, die Tumoren lysieren können (Keogh et al, *J Immunol.* 167:787-96, 2001; Appella et al, *Biomed Pept Proteins Nucleic Acids* 1:177-84, 1995; Wentworth et al, *Mol Immunol.* 32:603-12, 1995).

Die erfindungsgemäß beschriebenen pharmazeutischen Zusammensetzungen können auch als Vakzinen für die Immunisierung eingesetzt werden. Die Begriffe "Immunisierung" oder „Vakzinierung“ bedeuten erfindungsgemäß eine Erhöhung oder Aktivierung einer Immunreaktion gegenüber einem Antigen. Tiermodelle können zum Testen einer immunisierenden Wirkung gegenüber Krebs durch Verwendung eines Tumor-assoziierten Antigens oder einer dafür kodierenden Nukleinsäure eingesetzt werden. Zum Beispiel können menschliche Krebszellen in eine Maus für die Schaffung eines Tumors eingebracht werden und eine oder mehrere Nukleinsäuren, die für Tumor-assoziierte Antigene kodieren, können verabreicht werden. Die Wirkung auf die Krebszellen (beispielsweise Verringerung der Tumorgroße) kann als Maß für die Wirksamkeit einer Immunisierung durch die Nukleinsäure gemessen werden.

Als Teil der Zusammensetzung für eine Immunisierung werden eines oder mehrere Tumor-assoziierte Antigene oder stimulierende Fragmente davon mit einem oder mehreren Adjuvantien für eine Induktion einer Immunreaktion oder eine Erhöhung einer Immunreaktion verabreicht. Ein Adjuvans ist eine Substanz, die in das Antigen eingebaut oder gemeinsam mit diesem verabreicht wird und die Immunreaktion verstärkt. Adjuvantien können die Immunreaktion durch Bereitstellen eines Antigen-Reservoirs (extrazellulär oder in Makrophagen), Aktivierung von Makrophagen und Stimulierung bestimmter Lymphozyten verstärken. Adjuvantien sind bekannt und umfassen in nicht begrenzender Weise Monophosphoryl-Lipid-A (MPL, SmithKline Beecham), Saponine wie QS21 (SmithKline Beecham), DQS21 (SmithKline Beecham; WO 96/33739), QS7, QS17, QS18 und QS-L1 (So et al., *Mol. Cells* 7:178-186, 1997), unvollständiges Freundesches Adjuvans, vollständiges Freundesches Adjuvans, Vitamin E, Montanid, Alaun, CpG-Oligonukleotide (vgl. Kreig et al., *Nature* 374:546-9, 1995) und verschiedene Wasser-in-Öl-Emulsionen, die aus biologisch abbaubaren Ölen wie Squalen und/oder Tocopherol hergestellt werden. Vorzugsweise werden die Peptide in einer Mischung mit DQS21/MPL verabreicht. Das Verhältnis von DQS21 zu MPL beträgt typischerweise etwa 1:10 bis 10:1, vorzugsweise etwa 1:5 bis 5:1 und

insbesondere etwa 1:1. Für eine Verabreichung an den Menschen sind DQS21 und MPL typischerweise in einer Vaccine-Formulierung in einem Bereich von etwa 1 µg bis etwa 100 µg vorhanden.

- 5 Andere Stoffe, die eine Immunreaktion des Patienten stimulieren, können auch verabreicht werden. Zum Beispiel sind Cytokine bei einer Vaccinierung aufgrund ihrer regulatorischen Eigenschaften auf Lymphozyten verwendbar. Solche Cytokine umfassen z.B. Interleukin-12 (IL-12), von dem gezeigt wurde, dass es die schützenden Wirkungen von Vaccinen verstärkt (vgl. *Science* 268:1432-1434, 1995), GM-CSF und IL-18.

Es gibt eine Reihe von Verbindungen, die eine Immunreaktion verstärken und die daher bei einer Vaccinierung eingesetzt werden können. Diese umfassen co-stimulierende Moleküle, die in Form von Proteinen oder Nukleinsäuren bereitgestellt werden. Solche co-stimulierenden Moleküle sind beispielsweise B7-1 und B7-2 (CD80 bzw. CD86), die auf dendritischen Zellen (DC) exprimiert werden und mit dem auf den T-Zellen exprimierten CD28-Molekül interagieren. Diese Interaktion stellt eine Co-Stimulierung (Signal 2) für eine Antigen/MHC/TCR-stimulierte (Signal 1) T-Zelle bereit, wodurch die Vermehrung der T-Zelle und die Effektorfunktion verstärkt wird. B7 interagiert auch mit CTLA4 (CD152) auf T-Zellen und Untersuchungen, die CTLA4- und B7-Liganden einbeziehen, zeigen, dass die B7-CTLA4-Interaktion eine Antitumor-Immunität und CTL-Vermehrung verstärken kann (Zheng, P. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95(11):6284-6289 (1998)).

B7 wird typischerweise nicht auf Tumorzellen exprimiert, so dass diese keine wirksamen Antigen-präsentierenden Zellen (APCs) für T-Zellen sind. Eine Induktion der B7-Expression, würde ermöglichen, dass Tumorzellen wirksamer eine Vermehrung von cytotoxischen T-Lymphozyten und eine Effektorfunktion stimulieren. Eine Co-Stimulierung durch eine Kombination von B7/IL-6/IL-12 zeigte eine Induktion des IFN-gamma- und Th1-Cytokin-Profiles in einer T-Zell-Population, was zu einer weiter verstärkten T-Zell-Aktivität führt (Gajewski et al., *J. Immunol.* 154:5637-5648 (1995)).

30

Eine vollständige Aktivierung von cytotoxischen T-Lymphozyten und eine vollständige Effektorfunktion erfordert eine Mitwirkung von T-Helferzellen durch die Interaktion zwischen dem CD40-Liganden auf den T-Helferzellen und dem CD40-Molekül, das von dendritischen Zellen exprimiert wird (Ridge et al., *Nature* 393:474 (1998), Bennett et al.,

Nature 393:478 (1998), Schönberger et al., *Nature* 393:480 (1998)). Der Mechanismus dieses co-stimulierenden Signals betrifft wahrscheinlich die Steigerung der B7- und assoziierten IL-6/IL-12-Produktion durch die dendritischen Zellen (Antigen-präsentierenden Zellen). Die CD40-CD40L-Interaktion komplementiert so die Interaktionen des Signals 1 (Antigen/MHC-TCR) und des Signals 2 (B7-CD28).

Die Verwendung von anti-CD40-Antikörpern für eine Stimulierung von dendritischen Zellen würde erwartungsgemäß direkt eine Reaktion gegenüber Tumor-Antigenen verstärken, die normalerweise außerhalb des Bereichs einer entzündlichen Reaktion liegen oder von nicht-professionellen Antigen-präsentierenden Zellen (Tumorzellen) präsentiert werden. In diesen Situationen werden T-Helfer- und B7-co-stimulierende Signale nicht bereitgestellt. Dieser Mechanismus könnte im Zusammenhang mit Therapien verwendet werden, die auf Antigen-gepulsten dendritischen Zellen basieren.

Erfindungsgemäß vorgesehen ist auch eine Verabreichung von Nukleinsäuren, Polypeptiden oder Peptiden. Eine Verabreichung von Polypeptiden und Peptiden kann in an sich bekannter Weise erfolgen. In einer Ausführungsform erfolgt die Verabreichung von Nukleinsäuren durch *ex vivo*-Verfahren, d.h. durch Entfernung von Zellen aus einem Patienten, genetische Veränderung der Zellen, um ein Tumor-assoziiertes Antigen einzubauen, und Wiedereinbringung der veränderten Zellen in den Patienten. Dies umfasst im Allgemeinen das Einbringen einer funktionellen Kopie eines Gens in die Zellen eines Patienten *in vitro* und die Rückführung der genetisch veränderten Zellen in den Patienten. Die funktionelle Kopie des Gens steht unter funktioneller Kontrolle von regulatorischen Elementen, die eine Expression des Gens in den genetisch veränderten Zellen erlauben. Transfektions- und Transduktionsverfahren sind dem Fachmann bekannt. Erfindungsgemäß vorgesehen ist auch eine Verabreichung von Nukleinsäuren *in vivo* durch die Verwendung von Vektoren wie Viren und zielgesteuerten Liposomen.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist ein viraler Vektor für die Verabreichung einer Nukleinsäure, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen kodiert, aus der Gruppe ausgewählt bestehend aus Adenoviren, Adeno-assoziierten Viren, Poxviren, einschließlich Vacciniavirus und attenuierten Poxviren, Semliki-Forest-Virus, Retroviren, Sindbis-Virus und Ty-Virus-ähnlichen Partikeln. Besonders bevorzugt sind Adenoviren und Retroviren. Die Retroviren sind üblicherweise replikationsdefizient (d.h. sie sind unfähig, infektiöse Partikel zu erzeugen).

Verschiedene Verfahren können eingesetzt werden, um erfindungsgemäß Nukleinsäuren in Zellen *in vitro* oder *in vivo* einzubringen. Solche Verfahren umfassen die Transfektion von Nukleinsäure- CaPO_4 -Präzipitaten, die Transfektion von Nukleinsäuren, die mit DEAE assoziiert sind, die Transfektion oder Infektion mit den vorstehenden Viren, die die interessierenden Nukleinsäuren tragen, die Liposomen-vermittelte Transfektion und ähnliches. In bestimmten Ausführungsformen ist eine Steuerung der Nukleinsäure an bestimmte Zellen bevorzugt. In solchen Ausführungsformen kann ein Träger, der für die Verabreichung einer Nukleinsäure an eine Zelle (z.B. ein Retrovirus oder ein Liposom) eingesetzt wird, ein gebundenes Zielsteuerungsmolekül aufweisen. Zum Beispiel kann ein Molekül wie ein Antikörper, der für ein Oberflächenmembran-Protein auf der Zielzelle spezifisch ist, oder ein Ligand für einen Rezeptor auf der Zielzelle in den Nukleinsäureträger eingebaut oder daran gebunden werden. Bevorzugte Antikörper umfassen Antikörper, die selektiv ein Tumor-assoziiertes Antigen binden. Falls eine Verabreichung einer Nukleinsäure durch Liposomen erwünscht ist, können Proteine, die an ein Oberflächenmembran-Protein binden, das mit der Endozytose assoziiert ist, in die Liposomenformulierung eingebaut werden, um eine Zielsteuerung und/oder Aufnahme zu ermöglichen. Solche Proteine umfassen Kapsid-Proteine oder Fragmente davon, die für einen bestimmten Zelltyp spezifisch sind, Antikörper gegen Proteine, die internalisiert werden, Proteine, die eine intrazelluläre Stelle ansteuern und ähnliches.

Die erfindungsgemäßen therapeutischen Zusammensetzungen können in pharmazeutisch verträglichen Zubereitungen verabreicht werden. Solche Zubereitungen können gewöhnlich pharmazeutisch verträgliche Konzentrationen von Salzen, Pufferstoffen, Konservierungsstoffen, Trägern, ergänzenden immunitätssteigernden Stoffen wie Adjuvantien, CpG und Cytokine und gegebenenfalls andere therapeutische Wirkstoffe enthalten.

Die erfindungsgemäßen therapeutischen Wirkstoffe können auf jedem herkömmlichen Weg verabreicht werden, einschließlich durch Injektion oder durch Infusion. Die Verabreichung kann beispielsweise oral, intravenös, intraperitoneal, intramuskulär, subkutan oder transdermal erfolgen. Eine therapeutische Verabreichung von Antikörpern erfolgt vorzugsweise durch ein Lungenaerosol. Die Verabreichung von Antisense-Nukleinsäuren erfolgt vorzugsweise durch langsame intravenöse Verabreichung.

Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen werden in wirksamen Mengen verabreicht. Eine "wirksame Menge" betrifft die Menge, die alleine oder zusammen mit weiteren Dosen eine gewünschte Reaktion oder eine gewünschte Wirkung erzielt. Im Fall einer Behandlung einer bestimmten Erkrankung oder eines bestimmten Zustands, der sich durch die Expression eines oder mehrerer Tumor-assoziiierter Antigene auszeichnet, betrifft die gewünschte Reaktion die Hemmung des Krankheitsverlaufs. Dies umfasst die Verlangsamung des Fortschreitens der Erkrankung und insbesondere eine Unterbrechung des Fortschreitens der Erkrankung. Die gewünschte Reaktion bei einer Behandlung einer Krankheit oder eines Zustands kann auch die Verzögerung des Ausbruchs oder eine Verhinderung des Ausbruchs der Krankheit oder des Zustands sein.

Eine wirksame Menge einer erfindungsgemäßen Zusammensetzung wird von dem zu behandelnden Zustand, der Schwere der Krankheit, den individuellen Parametern des Patienten, einschließlich Alter, physiologischer Zustand, Größe und Gewicht, der Dauer der Behandlung, der Art einer begleitenden Therapie (falls vorhanden), dem spezifischen Verabreichungsweg und ähnlichen Faktoren abhängen.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen sind vorzugsweise steril und enthalten eine wirksame Menge der therapeutisch wirksamen Substanz für die Erzeugung der gewünschten Reaktion oder der gewünschten Wirkung.

Die Dosen der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen, die verabreicht werden, können von verschiedenen Parametern wie der Verabreichungsart, dem Zustand des Patienten, dem gewünschten Verabreichungszeitraum, usw. abhängen. Für den Fall, dass eine Reaktion bei einem Patienten bei einer anfänglichen Dosis unzureichend ist, können höhere Dosen (oder effektiv höhere Dosen, die durch einen anderen, stärker lokalisierten Verabreichungsweg erzielt werden) eingesetzt werden.

Im Allgemeinen werden für eine Behandlung oder für eine Erzeugung oder Erhöhung einer Immunreaktion Dosen des Tumor-assoziierten Antigens von 1 ng bis 1 mg, vorzugsweise von 10 ng bis 100 µg formuliert und verabreicht. Falls die Verabreichung von Nukleinsäuren (DNA sowie RNA), die für Tumor-assoziierte Antigene kodieren, erwünscht ist, werden Dosen von 1 ng bis 0,1 mg formuliert und verabreicht.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen werden im Allgemeinen in pharmazeutisch verträglichen Mengen und in pharmazeutisch verträglichen Zusammensetzungen verabreicht. Der Begriff "pharmazeutisch verträglich" betrifft ein nicht-
 5 toxisches Material, das nicht mit der Wirkung des aktiven Bestandteils der pharmazeutischen Zusammensetzung wechselwirkt. Solche Zubereitungen können gewöhnlich Salze, Pufferstoffe, Konservierungsstoffe, Träger und gegebenenfalls andere therapeutische Wirkstoffe enthalten. Bei einer Verwendung in der Medizin sollten die Salze pharmazeutisch verträglich sein. Nicht-pharmazeutisch verträgliche Salze können jedoch für die Herstellung
 10 pharmazeutisch verträglicher Salze davon verwendet werden und sind erfindungsgemäß umfasst. Solche pharmakologisch und pharmazeutisch verträglichen Salze umfassen in nicht begrenzender Weise diejenigen, die aus den nachstehenden Säuren hergestellt werden: Chlorwasserstoff-, Bromwasserstoff-, Schwefel-, Salpeter-, Phosphor-, Malein-, Essig-, Salicyl-, Citronen-, Ameisen-, Malon-, Bernsteinsäure und ähnliches. Pharmazeutisch
 15 verträgliche Salze können auch als Alkalimetall- oder Erdalkalimetallsalze wie Natrium-, Kalium- oder Calciumsalze hergestellt werden.

Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung kann einen pharmazeutisch verträglichen Träger umfassen. Der Begriff "pharmazeutisch verträglicher Träger" betrifft
 20 erfindungsgemäß einen oder mehrere kompatible feste oder flüssige Füllstoffe, Verdünnungsmittel oder Kapselsubstanzen, die für eine Verabreichung an einen Menschen geeignet sind. Der Begriff "Träger" betrifft einen organischen oder anorganischen Bestandteil, natürlicher oder synthetischer Natur, in dem der aktive Bestandteil kombiniert wird, um eine
 25 Anwendung zu erleichtern. Die Bestandteile der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung sind gewöhnlich derart, dass keine Interaktion auftritt, die die gewünschte pharmazeutische Wirksamkeit wesentlich beeinträchtigt.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen können geeignete Pufferstoffe wie Essigsäure in einem Salz, Citronensäure in einem Salz, Borsäure in einem
 30 Salz und Phosphorsäure in einem Salz enthalten.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen können auch gegebenenfalls geeignete Konservierungsstoffe wie Benzalkoniumchlorid, Chlorbutanol, Parabene und Thimerosal enthalten.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen werden gewöhnlich in einer einheitlichen Dosisform dargeboten und können in an sich bekannter Weise hergestellt werden. Erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzungen können beispielsweise in Form von

5 Kapseln, Tabletten, Lutschpastillen, Suspensionen, Sirupen, Elixieren oder als Emulsion vorliegen.

Zusammensetzungen, die für eine parenterale Verabreichung geeignet sind, umfassen gewöhnlich eine sterile wässrige oder nicht-wässrige Zubereitung des Wirkstoffs, die

1 vorzugsweise mit dem Blut des Empfängers isotonisch ist. Verträgliche Träger und Lösungsmittel sind beispielsweise Ringer-Lösung und isotonische Natriumchloridlösung. Zusätzlich werden gewöhnlich sterile, fixierte Öle als Lösungs- oder Suspensionsmedium eingesetzt.

15 Die vorliegende Erfindung wird durch die nachstehenden Abbildungen und Beispiele ausführlich beschrieben, die ausschließlich der Erläuterung dienen und nicht begrenzend zu verstehen sind. Dem Fachmann sind aufgrund der Beschreibung und der Beispiele weitere Ausführungsformen zugänglich, die ebenfalls erfindungsgemäß umfasst sind.

2 Abbildungen:

Abb. 1. GPR35 mRNA-Expression in Kolon-Karzinom-Biopsien.

RT-PCR-Untersuchungen mit DNA-freier RNA zeigt GPR35-Expression in der Mehrzahl der Kolon-Karzinom Biopsien. Hingegen ist eine Expression in Normalgeweben nicht

25 nachweisbar. (1-Brust, 2- Lunge ,3-Lymphknoten, 4-Thymus, 5-Kolon, 6-15 Kolonkarzinom, 16-neg. Kontrolle).

Abb. 2. Quantitative PCR-Analyse der GUCY2C mRNA-Expression in Normal und Tumor-Geweben. Real-Time PCR-Untersuchung mit GUCY2C-spezifischen Primern (SEQ

30 ID NO: 22-23) zeigt eine selektive mRNA-Expression im normalen Ileum, Kolon, sowie in allen Kolon-Karzinom-Biopsien. Deutliche GUCY2C-Transkriptmengen wurden auch in einer Kolonkarzinom-Metastase in der Leber detektiert.

Abb. 3. Identifikation von Tumorspezifischen GUCY2C-Spleißvarianten

PCR-Produkte von normalen Kolongeweben und Kolonkarzinomen wurden kloniert und Klone aus beiden Gruppen durch Restriktionsanalyse (EcoR I) überprüft und sequenziert.

Abb. 4. Selektive SCGB3A-Expression in normaler Lunge und Lungenkarzinom

RT-PCR-Analyse mit Gen-spezifischen SCGB3A2-Primern (SEQ ID NO:37, 38) zeigt eine cDNA-Amplifikation ausschließlich in normaler Lunge (Spur 8, 14-15) und in Lungenkarzinom-Biopsien (Spur 16-24). (1-Leber-N, 2-PBMC-N, 3-Lymphknoten-N, 4-Magen-N, 5-Testis-N, 6-Mamma-N, 7-Niere-N, 8-Lunge-N, 9-Thymus-N, 10-Ovar-N, 11-Nebenniere-N, 12-Milz-N, 14-15-Lunge-N, 16-24-Lunge-Karzinom, 25-Negativ-Kontrolle).

Abb. 5. Claudin-18A2.1-Expression im Magen, Ösophagus, Magen- und Pankreaskarzinom

RT-PCR-Analyse mit Claudin-18A2.1-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 39, 40) zeigte erfindungsgemäß in 8/10 Magenkarzinom-Biopsien, sowie in 3/6 Pankreaskarzinom-Biopsien eine ausgeprägte Claudin-18A2.1-Expression. In Magen und Ösophagus-Normalgewebe wurde ebenfalls eine deutliche Expression nachgewiesen. Im Gegensatz dazu wurde im Ovar und im Ovarkarzinom keine Expression detektiert.

Abb. 6. SLC13A1-Expression in der Niere und Nierenzellkarzinom

RT-PCR-Analyse mit SLC13A1-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 49, 50) zeigte in 7/8 Nierenzellkarzinom-Proben eine Expression. Ansonsten wurden Transkripte innerhalb der Normalgewebe ausschließlich in der Niere detektiert. (1-2-Niere, 3-10-Nierenzellkarzinom, 11-Brust, 12-Lunge, 13-Leber, 14-Kolon, 15-Lymphknoten, 16-Milz, 17-Ösophagus, 18-Thymus, 19-Schilddrüse, 20-PBMCs, 21-Ovar, 22-Hoden).

Abb. 7. CLCA1-Expression im Kolon, Kolon-und Magen-Karzinom

RT-PCR-Untersuchungen mit CLCA1-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 67, 68) bestätigten eine selektive Expression im Kolon, und zeigten eine hohe Expression in (3/7) untersuchten Kolon- und (1/3) untersuchten Magenkarzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe (NG) zeigten keine oder nur eine sehr schwache Expression.

Abb. 8. FLJ21477-Expression im Kolon und Kolon-Karzinom

RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ21477-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 69, 70) zeigten eine selektive Expression im Kolon, und darüber hinaus unterschiedlich stark ausgeprägte Expression in (7/12) untersuchten Kolon-Karzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe (NG) zeigten keine Expression.

Abb.9. FLJ20694-Expression im Kolon und Kolon-Karzinom

RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ20694-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 71, 72) zeigten eine selektive Expression im Kolon, und darüber hinaus unterschiedlich stark ausgeprägte Expression in (5/9) untersuchten Kolon-Karzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe (NG) zeigten keine Expression.

Abb. 10. von Ebner-Expression im Magen Lunge- und Lungen-Karzinom.

RT-PCR-Untersuchungen mit von Ebner-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 73, 74) zeigten eine selektive Expression im Magen, Lunge und in (5/10) untersuchten Lungen-Karzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe (NG) zeigten keine Expression

Abb. 11. Plunc-Expression im Thymus, Lunge- und Lungen-Karzinom.

RT-PCR-Untersuchungen mit Plunc-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 75, 76) zeigten eine selektive Expression im Thymus, in der Lunge und in (6/10) untersuchten Lungen-Karzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression

Abb. 12. SLC26A9-Expression in Lunge, Lungenkarzinom und Schilddrüse

RT-PCR-Untersuchungen mit SLC26A9-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 77, 78) zeigten eine selektive Expression in der Lunge und in allen (13/13) untersuchten Lungen-Karzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe (NG zeigten mit Ausnahme der Schilddrüse keine Expression

Abb. 13. THC1005163-Expression in Magen Ovar, Lunge und Lungenkarzinom

RT-PCR-Untersuchungen mit einem THC1005163-spezifischen Primer (SEQ ID NO: 79) und einem unspezifischen Oligo dT-Tag-Primer zeigten eine Expression in Magen, Ovar, Lunge und in (5/9) Lungenkarzinom-Biopsien. Die übrigen Normalgewebe (NG) zeigten keine Expression.

Abb. 14. LOC134288-Expression in Niere und Nierenzellkarzinom

RT-PCR-Untersuchungen mit LOC134288-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 80, 81) zeigten eine selektive Expression in der Niere und in (5/8) untersuchten Nierenzellkarzinom-Biopsien.

Abb. 15. THC943866-Expression in Niere und Nierenzellkarzinom

RT-PCR-Untersuchungen mit THC943866-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 82, 83) zeigten eine selektive Expression in der Niere und in (4/8) untersuchten Nierenzellkarzinom-Biopsien.

Abb. 16. FLJ21458-Expression in Kolon und Kolonkarzinom

RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ21458-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 86, 87) zeigten eine selektive Expression im Kolon und in (7/10) untersuchten Kolonkarzinom-Biopsien. (1-2-Kolon, 3-Leber, 4-PBMCs, 5-Milz, 6-Prostata, 7-Niere, 8-Ovar, 9-Haut, 10-Ileum, 11-Lunge, 12-Testis, 13-22 Kolonkarzinom, 23- neg. Kontrolle).

15

Beispiele:

Material und Methoden

Die Begriffe "*in silico*", "elektronisch" und "virtuell klonieren" beziehen sich rein auf die Nutzung von auf Datenbanken beruhenden Verfahren, mit denen auch Labor-experimentelle Vorgänge simuliert werden können.

Alle anderen Begriffe und Termini sind, falls nicht explizit anders definiert, so verwendet, wie sie der Fachmann versteht. Die genannten Techniken und Methoden erfolgen in an sich bekannter Weise und sind z.B. in Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2. Auflage (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y beschrieben. Alle Verfahren, die die Verwendung von Kits und Reagenzien einschließen, sind entsprechend den Angaben der Hersteller durchgeführt.

Datamining-basierte Strategie zur Ermittlung von neuen Tumor-assoziierten Genen

Zwei *in silico* Strategien nämlich GenBank-Schlagwort-Suche und der cDNAxProfiler wurden kombiniert (Abb. 1). Es wurde unter Nutzung des ENTREZ Search and Retrieval Systems des NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>) eine Suche nach Kandidaten-Genen in der GenBank durchgeführt, die annotiert sind als spezifisch exprimiert in bestimmten Geweben. (Wheeler et al., *Nucleic Acids Research* 28:10-14, 2000).

Durch Suchabfragen mit Schlagworten wie beispielsweise "colon-specific gene", "stomach-specific gene", oder "kidney-specific gene" wurden Kandidatengene (GOI, genes of interest) aus den Datenbanken herausextrahiert. Die Suche wurde auf einen Teil der Gesamtinformation dieser Datenbanken eingeschränkt, indem als Limits "homo sapiens" für den Organismus und "mRNA" für die Molekülart eingesetzt wurden.

Die Liste der gefundenen GOI wurde kuratiert, indem unterschiedliche Bezeichnungen für dieselbe Sequenz ermittelt und solche Redundanzen behoben wurden.

Alle Kandidatengene, die sich durch die Schlagwort-Suche ergaben, wurden wiederum durch das Verfahren des "electronic Northern" (eNorthern) bezüglich ihrer Gewebeverteilung untersucht. Der eNorthern basiert darauf, dass die Sequenz eines GOI gegenüber einer EST- (expressed sequence tag) Datenbank (Adams et al., *Science* 252:1651, 1991) abgeglichen wird (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Zu jedem EST, das sich als homolog zum eingegebenen GOI ergibt, lässt sich die Gewebeherkunft ermitteln und durch die Summe aller ESTs auf diese Weise eine vorläufige Einschätzung der Gewebeverteilung des GOI erreichen.

Nur diejenigen GOI wurden weiteren Untersuchungen zugeführt, die keine Homologien zu EST aus nicht Organ-spezifischen Normalgeweben hatten. Für diese Beurteilung wurde auch berücksichtigt, dass es falsch-annotierte cDNA Banken in der öffentlichen Domäne gibt (Scheurle et al., *Cancer Res.* 60:4037-4043, 2000) (www.fau.edu/cmabb/publications/cancergenes6.htm).

Als zweites Datamining-Verfahren wurde der cDNA xProfiler des Cancer Genome Anatomy Projekts des NCBI (<http://cgap.nci.nih.gov/Tissues/xProfiler>) genutzt (Hillier et al., *Genome Research* 6:807-828, 1996; Pennisi, *Science* 276:1023-1024, 1997). Dieser erlaubt Pools von in Datenbanken abgelegten Transkriptomen durch logische Operatoren in Beziehung zueinander zu setzen. Wir haben einen Pool A definiert, dem beispielsweise alle aus Colon hergestellten Expressionsbibliotheken, unter Ausschluss von gemischten Bibliotheken zugeordnet wurden. Dem Pool B wurden alle cDNA-Bibliotheken zugeordnet, die von Normalgeweben mit Ausnahme von Colon hergestellt waren. Generell wurden alle cDNA-Banken unabhängig vom zugrundeliegenden Herstellungsverfahren genutzt, allerdings lediglich solche mit einer Mächtigkeit > 1000 zugelassen. Mittels des BUT NOT Operators wurde Pool B digital von Pool A subtrahiert. Auch das Set der auf diese Weise gefundenen GOI wurde eNorthern-Studien unterzogen, sowie durch eine Literaturrecherche abgesichert.

Dieses kombinierte Datamining schließt alle etwa 13 000 Volllänge-Gene in der öffentlichen Domäne ein und prädiziert aus diesen Gene mit potentieller Organ-spezifischer Expression.

Alle anderen Gene wurden zunächst durch spezifische RT-PCR in Normalgeweben evaluiert. Alle GOI, die sich als in nicht Organ-spezifischen Normalgeweben exprimiert erwiesen, hatten als Falsch-Positive zu gelten und wurden aus weiteren Untersuchungen ausgeschlossen. Die verbliebenen wurden in einem großen Panel an verschiedensten Tumorgeweben untersucht. Die unten dargestellten Antigene erwiesen sich dabei als in Tumorzellen aktiviert.

RNA-Extraktion, Herstellung von poly-d(T) geprimter cDNA und RT-PCR Analyse

Gesamt-RNA aus nativem Gewebematerial wurde unter Verwendung von Guanidium-isothiocyanate als chaotrophem Agens extrahiert (Chomczynski & Sacchi, *Anal. Biochem.* 162:156-9, 1987). Nach Extraktion mit saurem Phenol und Fällung mit Isopropanol wurde die RNA in DEPC-behandeltem Wasser gelöst.

Aus 2-4 µg Gesamt-RNA wurde in einem 20µl Reaktionsansatz mittels Superscript II (Invitrogen) entsprechend den Angaben des Herstellers eine Erststrang-cDNA-Synthese durchgeführt. Als Primer wurde ein dT(18) Oligonukleotid verwendet. Integrität und Qualität der cDNA wurden durch Amplifikation von p53 in einer 30 Zyklen-PCR (sense CGTGAGCGCTTCGAGATGTTCCG, antisense CCTAACCAGCTGCCCAACTGTAG, Hybridisierungstemperatur 67°C) überprüft.

Es wurde ein Archiv aus Erststrang-cDNAs aus einer Reihe von Normalgeweben und Tumorentitäten hergestellt. Für Expressionsstudien wurden 0,5 µl dieser cDNAs in einem 30µl Reaktionsansatz mit GOI-spezifischen Primern (siehe unten) und 1 U HotStarTaq DNA Polymerase (Qiagen) amplifiziert. Der Reaktionsansatz enthielt jeweils 0,3 mM dNTPs, je 0,3 µM jeden Primers und 3 µl 10 x Reaktionspuffer.

Die Primer wurden so ausgewählt, dass sie in 2 verschiedenen Exons liegen und die Beseitigung der Interferenz durch kontaminierende genomische DNA als Grund für falsch positive Resultate wurde durch Testen von nicht revers transkribierter DNA als Matritze bestätigt. Nach 15 Minuten bei 95°C zur Aktivierung der HotStarTaq DNA Polymerase wurden 35 Zyklen PCR durchgeführt (1 min 94°C, 1 min jeweilige Hybridisierungstemperatur, 2 min 72°C und abschließende Elongation bei 72°C für 6 min).

20µl dieser Reaktion wurden auf einem mit Ethidiumbromid gefärbten Agarosegel aufgetrennt und analysiert.

Folgende Primer wurden für die Expressionsanalyse der entsprechenden Antigene bei der angegebenen Hybridisierungstemperatur verwendet.

GPR35 (65°C)

Sense: 5'-AGGTACATGAGCATCAGCCTG-3'

Antisense: 5'-GCAGCAGTTGGCATCTGAGAG-3'

5 GUCY2C (62°C)

Sense: 5'-GCAATAGACATTGCCAAGATG-3'

Antisense: 5'-AACGCTGTTGATTCTCCACAG-3'

SCGB3A2 (66°C)

Sense: 5'-CAGCCTTTGTAGTTACTCTGC-3'

1 Antisense: 5'-TGTCACACCAAGTGTGATAGC-3'

Claudin18A2.1 (68°C)

(Sense: 5'-GGTTCGTGGTTTCACTGATTGGGATTGC-3'

Antisense: 5'-CGGCTTTGTAGTTGGTTTCTTCTGGTG-3'

SLC13A1 (64°C)

15 Sense: 5'-CAGATGGTTGTGAGGAGTCTG-3'

Antisense: 5'-CCAGCTTTAACCATGTCAATG-3'

CLCA1 (62°C)

Sense: 5'-ACACGAATGGTAGATACAGTG-3'

Antisense: 5'-ATACTTGTGAGCTGTTCCATG-3'

2 FLJ21477 (68°C)

Sense: 5'-ACTGTTACCTTGCATGGACTG-3'

Antisense: 5'-CAATGAGAACACATGGACATG-3'

(FLJ20694 (64°C)

Sense: 5'-CCATGAAAGCTCCATGTCTA-3'

25 Antisense: 5'-AGAGATGGCACATATTCTGTC

Ebner (70°C)

Sense: 5'-ATCGGCTGAAGTCAAGCATCG-3'

Antisense: 5'-TGGTCAGTGAGGACTCAGCTG-3'

Plunc (55°C)

30 Sense: 5'-TTTCTCTGCTTGATGCACTTG-3'

Antisense: 5'-GTGAGCACTGGGAAGCAGCTC-3'

SLC26A9 (67°C)

Sense: 5'-GGCAAATGCTAGAGACGTGA-3'

Antisense: 5'-AGGTGTCCTTCAGCTGCCAAG-3'

THC1005163 (60°C)

Sense: 5'-GTAAAGTGCTCTCTGGATTTG-3'

LOC134288 (64°C)

Sense: 5'-ATCCTGATTGCTGTGTGCAAG-3'

5 Antisense: 5'-CTCTTCTAGCTGGTCAACATC-3'

THC943866 (59°C)

Sense: 5'-CCAGCAACAACCTTACGTGGTC-3'

Antisense: 5'-CCTTTATTACACCAATCACTC-3'

FLJ21458 (62°C)

Sense: 5'-ATTCATGGTTCCAGCAGGGAC-3'

Antisense: 5'-GGGAGACAAAGTCACGTACTC-3'

Herstellung von Random-Hexamer-geprimter cDNA und quantitative Real-Time-PCR

Das Prinzip der quantitativen Real-Time-PCR mit dem ABI PRISM Sequence Detection

15 System (PE Biosystems, USA) nutzt die 5'-3' Exonuklease-Aktivität der Taq DNA

Polymerase zur direkten und spezifischen Detektion von PCR-Produkten durch Freisetzung von Fluoreszenz-Reporterfarbstoffen. Neben Sense- und Antisense-Primern wird bei der PCR

eine doppelt fluoreszenz-markierte Sonde (TaqMan-Probe) eingesetzt die an eine Sequenz des PCR-Produkts hybridisiert. Die Sonde ist 5' mit einem Reporterfarbstoff (z.B. FAM) und 3'

2 mit einem Quencherfarbstoff (z.B. TAMRA) markiert. Ist die Sonde intakt, supprimiert die räumliche Nähe von Reporter zu Quencher die Emission der Reporterfluoreszenz.

Hybridisiert die Sonde während der PCR an das PCR-Produkt, wird sie durch die 5'-3'

Exonuklease-Aktivität der Taq DNA Polymerase gespalten und die Suppression der Reporterfluoreszenz aufgehoben. Das Ansteigen der Reporterfluoreszenz als Folge der

25 Zielamplifikation wird nach jedem PCR-Zyklus gemessen und zur Quantifizierung genutzt.

Die Expressionsquantifizierung des Zielgens erfolgt absolut oder relativ zur Expression eines Kontrollgens mit konstanter Expression in den zu untersuchenden Geweben. Die Reaktionen

wurden in Duplex-Ansätzen durchgeführt und in Duplikaten bestimmt. Die Synthese der cDNA erfolgte mit dem High Capacity cDNA Archive Kit (PE Biosystems, USA) unter

30 Verwendung von Hexamer-Primern nach Angaben des Herstellers. Jeweils 5 µl der

verdünnten cDNA wurden in 25 µl Gesamtvolumen für die PCR eingesetzt: sense-Primer

(GGTGTCACTTCTGTGCCTTCCT) 300 nM; antisense-Primer

(CGGCACCAGTTCCAACAATAG) 300 nM; TaqMan-Probe

(CAAAGGTTCTCCAAATGT) 250 nM; sense-Primer 18s RNA 50 nM; antisense-Primer

18s RNA 50 nM; 18 s RNA-Probe 250 nM; 12,5 µl TaqMan Universal PCR Master Mix; anfängliche Denaturierung 95°C (10 min); 95°C (15 sec); 60°C (1 min); 40 Zyklen.

Klonierung und Sequenzanalyse

- 5 Klonierung von Vollängen bzw. Genfragmenten erfolgte nach gängigen Methoden. Zur Ermittlung der Sequenz wurden entsprechende Antigene mittels der Proofreading-Polymerase pfu (Stratagene) amplifiziert. Nach Beendigung der PCR wurde Adenosin mittels HotStarTaq DNA Polymerase an die Enden des Amplikons ligiert, um die Fragmente entsprechend den Angaben des Herstellers in den TOPO-TA Vektor zu klonieren. Die Sequenzierung wurde durch einen kommerziellen Service durchgeführt. Die Sequenzen wurden mittels gängiger Prädiktionsprogramme und Algorithmen analysiert.

Beispiel 1: Identifizierung von GPR35 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

15

GPR35 (SEQ ID NO:1) und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO: 9) wurden als putativer G-Protein gekoppelter Rezeptor beschrieben. Die Sequenz ist in der Genbank unter der Zugangs-Nr. AF089087 veröffentlicht. Dieses Transkript kodiert für eine Protein von 309 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von 34 kDa. Es wurde prädiziert, dass GPR35 zur Super-Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren mit 7 Transmembran-Domänen gehört (O'Dowd et al., *Genomics* 47:310-13, 1998). Das Gen liegt auf dem langen Arm des 2. Chromosoms und enthält ein einzelnes Exon.

- (Erfindungsgemäß wurde mit einem Gen-spezifischen Primerpaar (SEQ ID NO: 20, 21) für GPR35 in RT-PCR Analysen cDNA im Kolon und im Kolonkarzinom (13/26) amplifiziert.
- 25 Dagegen ist eine Expression in anderen Normalgeweben nicht nachweisbar. Dies steht im Widerspruch zu publizierten Daten, in denen GPR35 Transkripte ubiquitär in Normalgeweben nachgewiesen wurden (O'Dowd et al., *Genomics* 47:310-13, 1998). Aufgrund der Besonderheit, dass GPR35 aus einem einzelnen Exon besteht, können genomische DNA-Verunreinigungen nicht mit Intron-überspannenden Primern nachgewiesen werden. Um eine
- 30 genomische Verunreinigung der RNA-Proben auszuschließen, wurden deshalb alle RNAs mit DNase behandelt. Erfindungsgemäß wurden mit DNA-freier RNA GPR35 Transkripte nur im Kolon und in Kolonkarzinomen nachgewiesen.

5

Tab. 1. GPR35 -Expression in Normalgeweben

| Normalgewebe | Expression |
|------------------|------------|
| Gehirn | nd |
| Cerebellum | nd |
| Myokard | nd |
| Skelettmuskel | nd |
| Herzmuskel | nd |
| Magen | nd |
| Kolon (Dickdarm) | ++ |
| Pankreas | nd |
| Niere | - |
| Leber | - |
| Testis (Hoden) | nd |
| Thymus | - |
| Mamma (Brust) | - |
| Ovar | - |
| Uterus | nd |
| Haut | - |
| Lunge | - |
| Thyroid | nd |
| Lymphknoten | - |
| Milz | - |
| PBMC | - |
| Nebenniere | - |
| Ösophagus | - |
| Dünndarm | - |
| Prostata | - |

15

25

30

(nd = nicht bestimmt)

Die selektive und hohe Expression von GPR35 Transkripten im normalen Kolon-Gewebe, sowie in Kolon-Karzinom-Biopsien (Abb. 1.) kann erfindungsgemäß für molekulare

diagnostische Verfahren wie z Bsp. RT-PCR zum Nachweis disseminierender Tumorzellen im Serum und Knochenmark und zum Nachweis von Metastasen in anderen Geweben genutzt werden.

Die 4 extrazellulären Domänen von GPR35 können erfindungsgemäß als Zielstrukturen von monoklonalen Antikörpern genutzt werden. Diese Antikörper binden spezifisch an der Zelloberfläche von Tumorzellen und können sowohl für diagnostische als auch für therapeutische Verfahren genutzt werden.

Des weiteren können die für Proteine kodierenden Sequenzen, erfindungsgemäß als Vakzine (RNA, DNA, Peptide; Protein) zur Induktion von Tumor-spezifischen Immun-Antworten (T-Zell- und B-Zell-vermittelte Immun-Reaktionen) genutzt werden.

Des weiteren können entsprechend der zellulären Funktion des GPR35 Moleküls erfindungsgemäß Substanzen, insbesondere kleine Moleküle entwickelt werden, die die Funktion von GPR35 auf Tumorzellen modulieren.

15 **Beispiel 2: Identifizierung von GUCY2C-Spleißvarianten als diagnostische und therapeutische Krebs-Targets**

Die Guanylatcyclase 2C (SEQ ID NO:2) ihr Translationsprodukt (SEQ ID NO: 11)– ein Typ I Transmembranprotein - gehört zur Familie der natriuretischen Peptidrezeptoren. Die Sequenz ist in der Genbank unter der Zugangsnummer NM_004963 veröffentlicht. Durch Bindung der Peptide Guanylin bzw. Uroguanylin oder auch hitzestabiler Enterotoxine (STa) wird die intrazelluläre cGMP-Konzentration erhöht, wodurch Signaltransduktionsprozesse innerhalb der Zelle induziert werden.

Neuere Untersuchungen weisen daraufhin, daß sich die Expression von GUCY2C auch auf extraintestinale Bereiche, wie beispielsweise primäre und metastasierende Adenokarzinome des Magens und des Ösophagus erstreckt (Park et al., *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 11: 739-44, 2002). Eine Splicevariante des GUCY2C, die sowohl in normalen als auch transformiertem Gewebe des Intestinums gefunden wird beinhaltet eine 142 bp Deletion im Exon 1, wodurch die Translation eines GUCY2C-ähnlichen Produktes verhindert wird (Pearlman et al., *Dig. Dis. Sci.* 45:298-05, 2000). Die bisher beschriebene einzige Spleißvariante führt zu keinem Translationsprodukt. Ziel unserer Untersuchungen war erfindungsgemäß tumorassoziierte Spleißvarianten für GUCY2C zu identifizieren, die sowohl diagnostisch als auch therapeutisch nutzbar sind.

RT-PCR-Untersuchungen mit einem GUCY2C-spezifischen Primerpaar (SEQ ID NO: 22, 23)

zeigen eine ausgeprägte Expression von GUCY2C Transkripten im normalen Kolon und eine schwache Expression im Magen, Leber, Testis, Ovar, Thymus, Milz und Lunge (Tab. 2.). Ausgeprägte GUCY2C-Transkript-Spiegel wurden im Kolon- und Magen-Karzinom nachgewiesen (Tab.2.). Diese Ergebnisse wurden durch eine quantitative PCR-Analyse präzisiert und zeigten eine ausgeprägte GUCY2C- Expression im normalen Kolon , Ileum, sowie in allen untersuchten Kolon-Karzinom-Proben (Abb.2).

Für die Detektion von Spleißvarianten in Kolon- und Kolonkarzinomgewebe wurden folgende Primerpaare verwendet: GUCY2C-118s/GUCY2C-498as (SEQ ID NO:24, 29); GUCY2C-621s/GUCY2C-1140as (SEQ ID NO:25, 30); GUCY2C-1450s/GUCY2C-1790as (SEQ ID NO:26, 31); GUCY2C-1993s/GUCY2C-2366as (SEQ ID NO:27, 32); GUCY2C-2717s/GUCY2C-3200as (SEQ ID NO:28, 33); GUCY2C-118s/GUCY2C-1140as (SEQ ID NO:24, 30); GUCY2C-621s/GUCY2C-1790as (SEQ ID NO:25, 31Sequenz); GUCY2C-1450s/GUCY2C-2366as (SEQ ID NO:26, 32); GUCY2C-1993s/GUCY2C-3200as (SEQ ID NO:27, 33).

Bei der Untersuchung von Spleißvarianten im Kolonkarzinomgewebe wurden erfindungsgemäß drei bisher unbekannte Formen identifiziert.

- a) Ein Deletion von Exon 3 (SEQ ID NO: 3), die zu einer nur 111 Aminosäuren langen Variante der GUCY2C führt, bei der das Asparagin an Position 111 durch ein Prolin ersetzt ist.
- b) Zweitens eine Deletion von Exon 6 (SEQ ID NO: 4), die in einem 258 Aminosäuren langen Expressionprodukt resultiert. C-terminal entstünde hierbei ein 13 Aminosäuren umfassendes Neoepitop.
- c) Schließlich noch eine Variante bei der die Nukleotide an den Positionen 1606-1614 bzw. die korrespondierenden Aminosäuren L(536), L(537) und Q(538) deletiert worden sind (SEQ ID NO: 5).

5 **Tabelle 2: GUC2C-Expression in Normal- und Tumorgeweben**

| Normalgewebe | Expression | Tumortyp | Expression |
|------------------|------------|-------------------|------------|
| Gehirn | | Kolonkarzinom | +++ |
| Cerebellum | | Pankreaskarzinom | - |
| Myokard | | Ösophaguskarzino | |
| Skelettmuskel | | Magenkarzinom | +++ |
| Herzmuskel | | Bronchialkarzinom | - |
| Magen | + | Mammakarzinom | - |
| Kolon (Dickdarm) | +++ | Ovarialkarzinom | |
| Pankreas | | Endometriumkarzi | |
| Niere | - | HNO-Tumoren | |
| Leber | + | Nierenzellkarzino | |
| Testis (Hoden) | + | Prostatakarzinom | |
| Thymus | + | | |
| Mamma (Brust) | - | | |
| Ovar | + | | |
| Uterus | | | |
| Haut | | | |
| Lunge | + | | |
| Thyroid | | | |
| Lymphknoten | - | | |
| Milz | + | | |
| PBMC | - | | |
| | | | |
| | | | |

30 Die erfindungsgemäßen Spleißvarianten mit Deletionen im Exon 3, bzw. Exon 6 (SEQ ID NO: 3, 4) zeichnen sich vor allem dadurch aus, daß die erfindungsgemäßen Translationsprodukte (SEQ ID NO: 12, 13) über keine Transmembrandomäne verfügen. Im Fall der Exon 6 Deletion entsteht C-terminal ein Neoepitop von 13 Aminosäuren, welches keinerlei Homologie zu bisher bekannten Proteinen aufweist. Dadurch ist dieses Neoepitop

als Zielstruktur für eine Immuntherapie prädestiniert. Die erfindungsgemäße Spleißvariante mit Basendeletionen an den Positionen 1606-1614 (SEQ ID NO: 5) und ihr Translationsprodukt (SEQ ID NO :14) beinhaltet zwar ebenfalls ein Neopitop, doch befindet sich dieses C-terminal von der Transmembrandomäne und ist somit intrazellulär vor dem direkten Zugriff durch Antikörper geschützt.

Beispiel 3: Identifizierung von SCGB3A2 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

- SCGB3A2 (SEQ ID NO: 6) und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO: 15) gehört zur Genfamilie der Sekretoglobine. Die Sequenz ist in der GenBank unter der Zugangsnummer NM_054023 veröffentlicht. SCGB3A2 (UGRP1) ist ein homodimerisches sekretorisches Protein von 17 kDa Größe, das ausschließlich in der Lunge und in den Tracheen exprimiert wird (Niimi et al., *Am J Hum Genet* 70:718-25, 2002).
- RT PCR-Untersuchungen mit einem Primerpaar (SEQ ID NO: 37, 38) bestätigten eine selektive Expression in normalen Lungen-Gewebe und erfindungsgemäß eine prominente Expression in der Mehrzahl der untersuchten Lungenkarzinom-Biopsien (Abb. 4.)
- Die Untersuchungen zeigten, dass SCGB3A2 in Bronchialkarzinomen stark und frequent exprimiert werden. Da die übrigen Normalgewebe bis auf Lunge und Trachea keine Expression aufweisen ist das Genprodukt erfindungsgemäß als Target für Diagnostik und Therapie geeignet.
- Die selektive und hohe Expression von SCGB3A2 im normalen Lungen-Gewebe, sowie in Lungen-Karzinom-Biopsien können erfindungsgemäß für molekulare diagnostische Verfahren wie z Bsp. RT-PCR zum Nachweis disseminierender Tumorzellen im Blut und Knochenmark, Sputum, Bronchial-Aspirat oder Lavage und zum Nachweis von Metastasen in anderen Geweben z.B. in lokalen Lymphknoten genutzt werden

Beispiel 4. Identifizierung von Claudin-18A2.1 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

Das Claudin-18 Gen kodiert für ein Oberflächenmembranmolekül mit einer gewebsspezifischen Expression in Lunge und Magen. Niimi und Kollegen (*Mol. Cell. Biol.* 21:7380-90, 2001) konnten zeigen, dass für das humane Claudin-18 zwei Spleißvarianten existieren, die selektiv in Lungengewebe (Claudin-18A1.1) bzw. in Magengewebe (Claudin-

18A2.1) exprimiert sind. Es wurde untersucht, ob Claudin-18A2.1 (SEQ ID NO :7) und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO:16) als Marker für Tumoren des oberen Gastrointestinaltrakts insbesondere Magen und Pankreaskarzinome genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 39, 40) verwendet, die eine spezifische Amplifikation dieser Spleißvariante erlauben.

Tabelle 3. Expression von Claudin-18A2.1 in Normal- und Tumor-Geweben

| Normalgewebe | Expression | Tumortyp | Expression |
|------------------|------------|--------------------|------------|
| Gehirn | | Colonicarcinom | |
| Cerebellum | | Pankreascarcinom | ++ |
| Myokard | | Ösophaguscarcinom | |
| Skelettmuskel | | Magencarcinom | +++ |
| Herzmuskel | | Bronchialcarcinom | |
| Magen | +++ | Mammacarcinom | |
| Colon (Dickdarm) | | Ovarialcarcinom | - |
| Pankreas | ++ | Endometriumcarcino | |
| Niere | - | HNO-Tumoren | |
| Leber | - | Nierenzellcarcinom | |
| Testis (Hoden) | | Prostatacarcinom | |
| Thymus | | | |
| Mamma (Brust) | - | | |
| Ovar | - | | |
| Uterus | | | |
| Haut | | | |
| Lunge | - | | |
| Thyroid | | | |
| Lymphknoten | | | |
| Milz | | | |
| PBMC | - | | |
| Ösophagus | +++ | | |
| | | | |

Erfindungsgemäß wurde gezeigt, dass 8/10 Magenkarzinomen und die Hälfte der getesteten Pankreaskarzinome eine starke Expression dieser Spleißvariante aufweisen (Abb.5). Dagegen

ist eine Expression in anderen Geweben nicht nachweisbar. Insbesondere findet sich in Lunge, Leber, Blut, Lymphknoten, Brust- und Nierengewebe keine Expression (Tab.3.). Hiermit stellt diese Spleißvariante erfindungsgemäß einen hochspezifischen molekularen Marker für die Metastasierung von oberen Magendarmtumoren dar. Dieser molekulare

5 Marker kann erfindungsgemäß sowohl zum Nachweis von Tumorzellen als auch zum therapeutischen Targeting von Tumoren des oberen Magendarmtrakts genutzt werden. Die Detektion der Tumoren kann erfindungsgemäß mit Claudin-18A2.1 spleißvariantenspezifischen Oligonukleotiden (SEQ ID NO. 39, 40) erfolgen. Als Oligonukleotide eignen sich insbesondere Primerpaare von den mindestens einer unter

1 stringenten Bedingungen an einen 180 Basenpaar langen Abschnitt des Transkripts bindet, der spezifisch für diese Spleißvariante ist (SEQ ID NO: 8). Erfindungsgemäß kann die Detektion von Tumorzellen auch durch Antikörper erfolgen, die ein Claudin-18A2.1 kodiertes spezifisches Epitop erkennen. Für die Herstellung der Antikörper können erfindungsgemäß Peptide zur Immunisierung verwendet werden, die für diese Spleißvariante spezifisch sind.

15 Für die Immunisierung eignen sich besonders die Aminosäuren 1-47 (SEQ ID NO: 19), die deutliche Epitopunterschiede zur der lungenspezifischen Spleißvariante dieses Gens aufweisen. Die spezifische Expression in Tumoren des oberen gastrointestinaltrakts macht Claudin-18A2.1 erfindungsgemäß auch zu einem therapeutischen Target für diese Tumoren. Insbesondere durch immuntherapeutische Verfahren wie Vakzine, monoklonale Antikörper bzw. adoptiven Transfer von antigen-spezifischen T-Lymphozyten. Auch hier stellen die Aminosäuren 1-47 (SEQ ID NO: 19) besonders gute Epitope dar. Für die Herstellung monoklonaler Antikörper, die therapeutisch genutzt werden, sind zur Immunisierung erfindungsgemäß insbesondere folgende Peptide DQWSTQDLYN (SEQ ID NO: 17), NNPVTAVFNYQ (SEQ ID NO. 18) oder homologe Peptide geeignet. Diese Epitope sind

25 extrazellulär gelegene Bereiche des Moleküls und erfindungsgemäß durch therapeutisch applizierte Antikörper targetierbar.

Beispiel 5: Identifizierung von SLC13A1 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

30

SLC13A1 gehört zur Familie der Natrium-Sulfat-Cotransporter. Das humane Gen ist im Gegensatz zum Maus-Homolg dieses Gens selektiv in der Niere exprimiert (Lee et al., *Genomics* 70:354-63). SLC13A1 kodiert für ein Protein von 595 Aminosäuren und enthält 13 putative Transmembran-Domänen. Durch alternatives Spleißen entstehen 4 verschiedene

Trankripte (SEQ ID NO: 41-44) und seine entsprechenden Translationsprodukte (SEQ ID NO: 45-48). Es wurde untersucht ob SLC13A1 als Marker für Nierentumore genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 49, 50) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von SLC13A1 ermöglichen.

5

Tab.4. Expression von SLC13A1 in Normal- und Tumorgeweben

| Normalgewebe | Expression |
|------------------|------------|
| Gehirn | nd |
| Cerebellum | nd |
| Myokard | nd |
| Skelettmuskel | nd |
| Herzmuskel | nd |
| Magen | nd |
| Kolon (Dickdarm) | nd |
| Pankreas | nd |
| Niere | - |
| Leber | - |
| Testis (Hoden) | - |
| Thymus | - |
| Mamma (Brust) | - |
| Ovar | - |
| Uterus | nd |
| Haut | nd |
| Lunge | - |
| Thyroid | - |
| Lymphknoten | - |
| Milz | - |
| PBMC | - |
| Sigma | - |
| Ösophagus | - |

| Tumortyp | Expression |
|---------------------|------------|
| Kolonkarzinom | nd |
| Pankreaskarzinom | nd |
| Ösophaguskarzinom | nd |
| Magenkarzinom | nd |
| Bronchialkarzinom | nd |
| Mammakarzinom | nd |
| Ovarialkarzinom | nd |
| Endometriumkarzinom | nd |
| HNO-Tumoren | nd |
| Nierenzellkarzinom | 7/8 |
| Prostatakarzinom | nd |
| | |
| | |

15

25

30

RT-PCR-Untersuchungen mit einem SLC13A1-spezifischen Primerpaar (SEQ ID NO: 49, 50) bestätigten eine selektive Expression in der Niere, und zeigten erfindungsgemäß eine hohe Expression in nahezu allen (7/8) untersuchten Nierenzellkarzinom-Biopsien (Tab.4., Abb. 6)

Die ausgeprägte Expression und hohe Inzidenz von SLC13A1 in Nierenzellkarzinomen machen dieses Protein erfindungsgemäß zu einem hochinteressanten diagnostischen und therapeutischen Marker. Dies umfasst erfindungsgemäß den Nachweis disseminierender Tumorzellen im Serum, Knochenmark, Urin, sowie die Detektion von Metastasen in anderen
 5 Organen mittels RT-PCR. Des weiteren können die extrazellulären Domänen von SLC13A1 erfindungsgemäß als Zielstruktur zur Immun-Diagnostik und Therapie mittels monoklonaler Antikörper verwendet werden. Des weiteren kann SLC13A1 erfindungsgemäß als Vakzine (RNA, DNA, Protein, Peptide) zur Induktion Tumor-spezifischer Immunantworten (T- und B-Zell vermittelte Immunreaktionen) eingesetzt werden. Dies umfasst erfindungsgemäß auch die Entwicklung von sogenannten „small compounds“, die die biologische Aktivität von SLC13A1 modulieren und zur Therapie von renalen Tumoren eingesetzt werden können.

Beispiel 6: Identifizierung von CLCA1 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

15 CLCA1 (SEQ ID NO: 51 und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO: 60) gehört zur Familie der Ca^{++} -aktivierten Cl^- -Kanäle. Die Sequenz ist in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM_001285 veröffentlicht. CLCA1 ist ausschließlich im intestinalen Kryptenepithel und in den Becherzellen exprimiert (Gruber et al., *Genomics* 54:200-14, 1998). Es wurde untersucht ob CLCA1 als Marker für Kolon- und Magenkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 67, 68) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von SLC13A1 ermöglichen. RT-PCR-Untersuchungen mit diesem Primer-Set bestätigten eine
 selektive Expression im Kolon, und zeigten erfindungsgemäß eine hohe Expression in (3/7) untersuchten Kolon- und (1/3) untersuchten Magenkarzinom-Proben (Abb. 7). Die übrigen
 25 Normalgewebe zeigten keine oder nur eine sehr schwache Expression.

Beispiel 7: Identifizierung von FLJ21477 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

30 FLJ21477 (SEQ ID NO: 52) und sein prädictiertes Translationsprodukt (SEQ ID NO: 61) wurde als hypothetisches Protein in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM_025153 veröffentlicht. RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ21477-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 69, 70) zeigten eine erfindungsgemäße selektive Expression im Kolon, und darüber hinaus

unterschiedlich stark ausgeprägte Expression in (7/12) untersuchten Kolon-Karzinom-Proben (Abb.8.). Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression

Beispiel 8: Identifizierung von FLJ20694 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-

5 Target

FLJ21477 (SEQ ID NO: 53) und sein prädictiertes Translationsprodukt (SEQ ID NO: 62) wurde als hypothetisches Protein in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM_017928 veröffentlicht. RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ20694-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 1 71, 72) zeigten eine erfindungsgemäße selektive Expression im Kolon, und darüber hinaus unterschiedlich stark ausgeprägte Expression in (5/9) untersuchten Kolon-Karzinom-Proben (Abb.9). Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression

Beispiel 9: Identifizierung des von Ebner Proteins als diagnostisches und

15 therapeutisches Krebs-Target

Das von Ebner Protein (SEQ ID NO: 54) und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO: 63) wurde als Plunc-verwandtes Protein der oberen Luftwege und des Nasen-Rachen-Epithels in der Genbank unter der Zugangs-Nr. AF364078 veröffentlicht. Erfindungsgemäß wurde 2 untersucht ob das von Ebner Protein als Marker von Lungenkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 73, 74) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von SLC13A1 ermöglichen. RT-PCR-Untersuchungen mit diesem Primer-Set zeigten eine selektive Expression in der Lunge und erfindungsgemäß in (5/10) untersuchten Lungenkarzinom-Proben (Abb. 10). Innerhalb der Gruppe der Normalgewebe zeigte sich auch 25 eine Expression im Magen. Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression.

Beispiel 10. Identifizierung von Plunc als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

30 Plunc (SEQ ID NO: 55) und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO: 64) wurde in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM_016583 veröffentlicht. Das humane Plunc kodiert für ein Protein von 256 Aminosäuren und weist eine 72%ige Homologie mit dem murinen Plunc Protein auf. (Bingle und Bingle, *Biochim Biophys Acta* 1493:363-7, 2000). Die Expression von

Plunc beschränkt sich auf die Trachea, die oberen Luftwege, Nasen-Rachen-Epithel und Speicheldrüse.

Erfindungsgemäß wurde untersucht ob Plunc als Marker von Lungenkarzinom genutzt werden kann. Hierzu haben wir Oligonukleotide (SEQ ID NO: 75, 76) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von Plunc ermöglichen.

RT-PCR-Untersuchungen mit diesem Primer-Set zeigten eine selektive Expression im Thymus, in der Lunge und in (6/10) untersuchten Lungenkarzinom-Proben (Abb. 11). Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression.

Beispiel 11. Identifizierung von SLC26A9 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

SLC26A9 (SEQ ID NO: 56) und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO: 65) wurde in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM_134325 veröffentlicht. SLC26A9 gehört zur Familie der Anionen-Austauscher. Die Expression von SLC26A9 beschränkt sich auf das bronchioläre und alveoläre Epithel der Lunge (Lohi et al., J Biol Chem 277 :14246-54, 2002).

Es wurde untersucht ob SLC26A9 als Marker von Lungenkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 77, 78) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von SLC26A9 ermöglichen. RT-PCR-Untersuchungen mit SLC26A9-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 77, 78) zeigten eine selektive Expression in der Lunge und erfindungsgemäß in allen (13/13) untersuchten Lungen-Karzinom-Proben (Abb. 12.). Die übrigen Normalgewebe zeigten mit Ausnahme der Schilddrüse keine Expression.

Beispiel 12. Identifizierung von THC1005163 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

THC1005163 (SEQ ID NO: 57) ist ein Genfragment aus dem TIGR-Gen Index. Das Gen ist nur im 3'-Bereich definiert während ein ORF fehlt. RT-PCR-Untersuchungen erfolgten mit einem THC1005163-spezifischen Primer (SEQ ID NO: 79) und einem Oligo dT₁₈ Primer, der am 5'-Ende ein spezifisches Tag von 21 spezifischen Basen hatte. Dieses Tag wurde mit Datenbank-Suchprogrammen auf Homologie mit bekannten Sequenzen überprüft. Dieser spezielle Primer wurde initial bei der cDNA-Synthese eingesetzt um genomische DNA-Verunreinigungen auszuschließen. RT-PCR-Untersuchungen mit diesem Primer-Set zeigten

eine Expression in Magen, Ovar, Lunge und erfindungsgemäß in (5/9) Lungenkarzinom-Biopsien (Abb. 13.). Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression.

Beispiel 13. Identifizierung von LOC134288 als diagnostisches und therapeutisches

5 Krebs-Target

LOC134288 (SEQ ID NO: 58) und sein prädictiertes Translationsprodukt (SEQ ID NO: 66) wurde in der Genbank unter der Zugangs-Nr. XM_059703 veröffentlicht.

Erfindungsgemäß wurde untersucht ob LOC134288 als Marker von Nierenzellkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 80, 81) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von LOC134288 ermöglichen. RT-PCR-Untersuchungen zeigten eine selektive Expression in der Niere und in (5/8) untersuchten Nierenzellkarzinom-Biopsien (Abb. 14).

15 Beispiel 14. Identifizierung von THC943866 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

THC943866 (SEQ ID NO: 59) ist ein Genfragment aus dem TIGR-Gen Index. Das Gen ist nur im 3'-Bereich definiert während ein ORF fehlt. Deshalb konnte bisher kein Translationsprodukt prädictiert werden.

Es wurde untersucht ob THC943866 als Marker von Nierenzellkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 82, 83) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von THC943866 ermöglichen.

RT-PCR-Untersuchungen mit THC943866-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 82, 83) zeigten eine selektive Expression in der Niere und in (4/8) untersuchten Nierenzellkarzinom-Biopsien (Abb. 15).

Beispiel 15. Identifizierung von FLJ21458 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

30

FLJ21458 (SEQ ID NO: 84) und sein prädictiertes Translationsprodukt (SEQ ID NO: 85) wurde in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM_034850 veröffentlicht.

Es wurde untersucht ob FLJ21458 als Marker von Kolonkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 86, 87) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von FLJ21458 ermöglichen.

RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ21458-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 86, 87) zeigten

- 5 eine selektive Expression im Kolon und in (7/10) untersuchten Kolonkarzinom-Biopsien (Abb. 16., Tab.5). Bioinformatische Untersuchungen zeigten, dass das von FLJ21458 kodierte Protein ein Zelloberflächenmolekül darstellt und über eine Immunglobulinsupermolekül-Domäne verfügt. Die selektive Expression dieses Oberflächenmoleküls macht es zu einem guten Target für die Entwicklung von diagnostischen Verfahren zur Detektion von Tumorzellen und therapeutischen Verfahren zur Elimination von Tumorzellen.

Tab. 5 FLJ21458-Expression in Normal- und Tumorgewebe

| Normalgewebe | Expression | Tumortyp | Expression |
|------------------------|------------|---------------------|------------|
| Gehirn | nd | Kolonkarzinom | 7/10 |
| Cerebellum (Kleinhirn) | nd | Pankreaskarzinom | nd |
| Myokard | nd | Ösophaguskarzinom | nd |
| Skelettmuskel | nd | Magenkarzinom | nd |
| Herzmuskel | nd | Bronchialkarzinom | nd |
| Magen | nd | Mammakarzinom | nd |
| Colon (Dickdarm) | ++ | Ovarialkarzinom | nd |
| Pankreas | nd | Endometriumkarzinom | nd |
| Niere | - | HNO-Tumoren | nd |
| Leber | - | Nierenzellkarzinom | nd |
| Testis (Hoden) | - | Prostatakarzinom | nd |
| Thymus | nd | | |
| Mamma (Brust) | nd | | |
| Ovar | - | | |
| Uterus | nd | | |
| Haut | - | | |
| Lunge | - | | |
| Thyroid (Schilddrüse) | nd | | |
| Lymphknoten | nd | | |
| Milz | - | | |
| PBMC | - | | |
| Nebenniere | nd | | |
| Ösophagus | nd | | |
| Dünndarm | - | | |
| Prostata | - | | |

Patentansprüche

5 1. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend ein Mittel, das die Expression oder Aktivität eines Tumor-assoziierten Antigens hemmt, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

- 10 (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84 , einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,
(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,
(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und
15 (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

2 2. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend ein Mittel mit tumorhemmender Aktivität, das selektiv ist für Zellen, die eine Expression oder abnormale Expression eines tumorassoziierten Antigens aufweisen, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus

- 25 (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,
(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,
(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und
(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

30 3. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 2, wobei das Mittel die Induktion des Zelltods, die Reduktion des Zellwachstums, eine Schädigung der Zellmembran oder eine Sekretion von Zytokinen bewirkt.

4. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Mittel eine Antisense-Nukleinsäure ist, die selektiv mit der Nukleinsäure hybridisiert, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert.
- 5 5. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Mittel ein Antikörper ist, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet.
6. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 2, wobei das Mittel ein komplementaktivierender Antikörper ist, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet.
7. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend ein Mittel, das bei einer Verabreichung selektiv die Menge an Komplexen zwischen einem HLA-Molekül und einem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon erhöht, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:
- 15 (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,
- (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,
- (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und
- (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.
- 25 8. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 7, wobei das Mittel einen oder mehrere Bestandteile umfasst, die aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus:
- (i) dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon,
- (ii) einer Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon kodiert,
- (iii) einer Wirtszelle, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimiert,
- 30 und
- (iv) isolierten Komplexen zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem HLA-Molekül.

9. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, 2 oder 7, wobei das Mittel mehrere Mittel umfasst, die jeweils selektiv die Expression oder Aktivität verschiedener Tumor-assoziiierter Antigene hemmen, jeweils selektiv für Zellen sind, die verschiedene Tumor-assoziierte Antigene exprimieren oder die Menge an Komplexen zwischen HLA-Molekülen und verschiedenen Tumor-assoziierten Antigenen oder Teilen davon erhöhen, wobei mindestens eines der Tumor-assoziierten Antigene eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:
- (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,
 - (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,
 - (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und
 - (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.
10. Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend einen oder mehrer Bestandteile, die aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus:
- (i) einem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon,
 - (ii) einer Nukleinsäure, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon kodiert,
 - (iii) einem Antikörper, der an ein Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon bindet,
 - (iv) einer Antisense-Nukleinsäure, die spezifisch mit einer Nukleinsäure, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen kodiert, hybridisiert,
 - (v) einer Wirtszelle, die ein Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon exprimiert, und
 - (vi) isolierten Komplexen zwischen einem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem HLA-Molekül,
- wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:
- (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,
 - (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,
 - (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und
 - (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

11. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8 oder 10, wobei die Nukleinsäure unter (ii) in einem Expressionsvektor vorliegt.

5 12. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8 oder 10, wobei die Nukleinsäure unter (ii) funktionell mit einem Promotor verbunden ist.

13. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8 oder 10, wobei die Wirtszelle das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon sekretiert.

14. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8 oder 10, wobei die Wirtszelle zusätzlich ein HLA-Molekül exprimiert, das an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon bindet.

15 15. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 14, wobei die Wirtszelle das HLA-Molekül und/oder das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon rekombinant exprimiert.

16. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 14, wobei die Wirtszelle das HLA-Molekül endogen exprimiert.

17. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8, 10, 14 oder 16, wobei die Wirtszelle eine Antigen-präsentierende Zelle ist.

25 18. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 17, wobei die Antigen-präsentierende Zelle eine dendritische Zelle oder ein Makrophage ist.

19. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 8, 10 und 13-18, wobei die Wirtszelle nicht-proliferativ ist.

30

20. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5 oder 10, wobei der Antikörper ein monoklonaler Antikörper ist.

21. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5 oder 10, wobei der Antikörper ein chimärer oder humanisierter Antikörper ist.
22. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5 oder 10, wobei der Antikörper
5 ein Fragment eines natürlichen Antikörpers ist.
23. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5 oder 10, wobei der Antikörper mit einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel gekoppelt ist.
24. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 4 oder 10, wobei die Antisense-Nukleinsäure eine Sequenz von 6-50 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, umfasst.
25. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 8 und 10-13, wobei
15 das durch die pharmazeutische Zusammensetzung bereitgestellte Tumor-assoziierte Antigen oder der Teil davon an MHC-Moleküle auf der Oberfläche von Zellen bindet, die eine abnormale Menge des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon exprimieren.
26. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 25, wobei die Bindung eine cytolytische Reaktion hervorruft und/ oder eine Cytokinausschüttung induziert
27. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-26, ferner umfassend einen pharmazeutisch verträglichen Träger und/oder ein Adjuvans.
- 25 28. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 27, wobei das Adjuvans Saponin, GM-CSF, CpG, Zytokin oder ein Chemokin ist.
29. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-28, die zur Behandlung einer Erkrankung eingesetzt werden kann, die sich durch die Expression oder
30 abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet.
30. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 29, wobei die Erkrankung Krebs ist.

31. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 29, wobei die Erkrankung ein Lungentumor, ein Brusttumor, ein Prostatatumor, ein Melanom, ein Kolontumor, ein Magentumor, ein Pankreastumor, ein HNO-Tumor, Nierenzellkarzinom oder ein Zervixkarzinom, ein Kolonkarzinom oder ein Mammakarzinom ist.

5

32. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-31, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Aminosäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 9-19, 45-48, 60-66, 85, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist.

33. Verfahren zur Diagnose einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend

(i) den Nachweis einer Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teils davon, und/oder

(ii) den Nachweis des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon, und/oder

15 (iii) den Nachweis eines Antikörpers gegen das Tumor-assoziierte Antigen oder eines Teils davon und/oder

(iv) den Nachweis von cytotoxischen oder Helfer-T-Lymphozyten, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon spezifisch sind in einer aus einem Patienten isolierten biologischen Probe, wobei

das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

25 (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

30 34. Verfahren nach Anspruch 33, wobei der Nachweis

(i) die Kontaktierung der biologischen Probe mit einem Mittel, das spezifisch an die Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder den Teil davon, an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon, an den Antikörper oder an die cytotoxischen oder Helfer-T-Lymphozyten bindet, und

(ii) den Nachweis der Komplexbildung zwischen dem Mittel und der Nukleinsäure oder dem Teil davon, dem Tumor-assoziierten Antigen oder dem Teil davon, dem Antikörper oder den cytotoxischen oder Helfer-T-Lymphozyten umfasst.

5 35. Verfahren nach Anspruch 33 oder 34, wobei der Nachweis mit dem Nachweis in einer vergleichbaren normalen biologischen Probe verglichen wird.

36. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-35, wobei sich die Erkrankung durch die Expression oder abnormale Expression mehrerer verschiedener Tumor-assoziiierter Antigene auszeichnet und der Nachweis einen Nachweis mehrerer Nukleinsäuren, die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene kodieren, oder von Teilen davon, den Nachweis der mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder von Teilen davon, den Nachweis mehrerer Antikörper, die an die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder an Teile davon binden, oder den Nachweis mehrerer cytotoxischer oder Helfer-
15 T-Lymphozyten, die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene spezifisch sind, umfasst.

37. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-36, wobei der Nachweis der Nukleinsäure oder des Teils davon mit einer Polynukleotid-Sonde erfolgt, die spezifisch mit der Nukleinsäure oder dem Teil davon hybridisiert.

38. Verfahren nach Anspruch 37, wobei die Polynukleotid-Sonde eine Sequenz von 6-50 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, umfasst.

25

39. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-36, wobei der Nachweis der Nukleinsäure oder des Teils davon durch selektive Amplifikation der Nukleinsäure oder des Teils davon erfolgt.

30 40. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-36, wobei das nachzuweisende Tumor-assoziierte Antigen oder der Teil davon in einem Komplex mit einem MHC-Molekül vorliegt.

41. Verfahren nach Anspruch 40, wobei das MHC-Molekül ein HLA-Molekül ist.

42. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-36 und 40-41, wobei der Nachweis des Tumor-assoziierten Antigens oder des Teils davon mit einem Antikörper erfolgt, der spezifisch an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon bindet.

5 43. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-36, wobei der Nachweis des Antikörpers mit einem Protein oder Peptid erfolgt, das spezifisch an den Antikörper bindet.

44. Verfahren zur Bestimmung der Regression, des Verlaufs oder des Ausbruchs einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend die Überwachung einer Probe aus einem Patienten, der die Erkrankung aufweist oder in Verdacht steht, an der Erkrankung zu erkranken in Bezug auf einen oder mehrere Parameter, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus:

- 15 (i) der Menge der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teils davon,
- (ii) der Menge des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon,
- (iii) der Menge an Antikörpern, die an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon binden, und
- (iv) der Menge an cytolytischen oder Cytokin-ausschüttenden T-Zellen, die für einen Komplex zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem MHC-Molekül spezifisch sind, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:
 - (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,
 - 25 (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,
 - (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und
 - (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

30

45. Verfahren nach Anspruch 44, wobei das Verfahren die Bestimmung des oder der Parameter zu einem ersten Zeitpunkt in einer ersten Probe und zu einem zweiten Zeitpunkt in einer weiteren Probe umfasst und durch einen Vergleich der beiden Proben der Verlauf der Erkrankung ermittelt wird.

46. Verfahren nach Anspruch 44 oder 45, wobei die Erkrankung sich durch die Expression oder abnormale Expression mehrerer verschiedener Tumor-assoziierten Antigene auszeichnet und die Überwachung eine Überwachung

- 5 (i) der Menge mehrerer Nukleinsäuren, die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene kodieren, oder von Teilen davon,
 (ii) der Menge der mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder von Teilen davon,
 (iii) der Menge mehrerer Antikörper, die an die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder an Teile davon binden, und/oder
 (iv) der Menge mehrerer cytolytischer oder Cytokine-ausschüttender T-Zellen, die für Komplexe zwischen den mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigenen oder von Teilen davon und MHC-Molekülen spezifisch sind, umfasst.

- 15 47. Verfahren nach einem der Ansprüche 44-46, wobei die Überwachung der Menge der Nukleinsäure oder des Teils davon mit einer Polynukleotid-Sonde erfolgt, die spezifisch mit der Nukleinsäure oder dem Teil davon hybridisiert.

48. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Polynukleotid-Sonde eine Sequenz von 6-50 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, umfasst.

- 25 49. Verfahren nach einem der Ansprüche 44-46, wobei die Überwachung der Menge der Nukleinsäure oder des Teils davon durch selektive Amplifikation der Nukleinsäure oder des Teils davon erfolgt.

50. Verfahren nach einem der Ansprüche 44-46, wobei die Überwachung der Menge des Tumor-assoziierten Antigens oder des Teils davon mit einem Antikörper erfolgt, der spezifisch an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon bindet.

30

51. Verfahren nach einem der Ansprüche 44-46, wobei die Überwachung der Menge an Antikörpern mit einem Protein oder Peptid erfolgt, das spezifisch an den Antikörper bindet.

52. Verfahren nach einem der Ansprüche 44-46, wobei die Überwachung der Menge an cytolytischen oder Cytokin-ausschüttenden T-Zellen mit einer Zelle erfolgt, die den Komplex zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen oder dem Teil davon und einem MHC-Molekül präsentiert.

5

53. Verfahren nach einem der Ansprüche 37-38, 42-43, 47-48 und 50-52, wobei die Polynukleotid-Sonde, der Antikörper, das Protein oder Peptid oder die Zelle nachweisbar markiert sind.

54. Verfahren nach Anspruch 53, wobei der nachweisbare Marker ein radioaktiver Marker oder ein Enzymmarker ist.

55. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-54, wobei die Probe Körperflüssigkeit und/oder Körpergewebe umfasst.

15

56. Verfahren zur Behandlung einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend die Verabreichung einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-32, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

25 (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

30

57. Verfahren zur Behandlung, Diagnose oder Überwachung einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend die Verabreichung eines Antikörpers, der an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon bindet und mit einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel gekoppelt ist, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

5 (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

58. Verfahren nach Anspruch 42, 50 oder 57, wobei der Antikörper ein monoklonaler Antikörper ist.

59. Verfahren nach Anspruch 42, 50 oder 57, wobei der Antikörper ein chimärer oder humanisierter Antikörper ist.

15 60. Verfahren nach Anspruch 42, 50 oder 57, wobei der Antikörper ein Fragment eines natürlichen Antikörpers ist.

61. Verfahren zur Behandlung eines Patienten mit einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend:

(i) die Entfernung einer Probe mit immunreaktiver Zellen aus dem Patienten,

(ii) die Kontaktierung der Probe mit einer Wirtszelle, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimiert, unter Bedingungen, die eine Produktion cytotytischer oder Cytokine-ausschüttender T-Zellen gegen das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon begünstigen, und

25 (iii) das Einbringen der cytotytischen oder Cytokine-ausschüttenden T-Zellen in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, Zellen zu lysieren, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimieren, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

30 (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

5 62. Verfahren nach Anspruch 61, wobei die Wirtszelle ein HLA-Molekül rekombinant exprimiert, das an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon bindet.

63. Verfahren nach Anspruch 62, wobei die Wirtszelle ein HLA-Molekül endogen exprimiert, das an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon bindet.

64. Verfahren zur Behandlung eines Patienten mit einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend:

15 (i) die Identifizierung einer Nukleinsäure, die von Zellen exprimiert wird, die mit der Erkrankung assoziiert sind, wobei die Nukleinsäure aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist,

(ii) die Transfektion einer Wirtszelle mit der Nukleinsäure oder einem Teil davon,

25 (iii) die Kultivierung der transfizierten Wirtszelle für eine Expression der Nukleinsäure, und

(iv) das Einbringen der Wirtszellen oder eines Extrakts davon in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, die Immunreaktion gegen die Zellen des Patienten, die mit der Erkrankung assoziiert sind, zu erhöhen.

30 65. Verfahren nach Anspruch 64, ferner umfassend die Identifizierung eines MHC-Moleküls, das das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon präsentiert, wobei die Wirtszelle das identifizierte MHC-Molekül exprimiert und das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon präsentiert.

66. Verfahren nach Anspruch 64 oder 65, wobei die Immunreaktion eine B-Zellen-Reaktion oder eine T-Zellen-Reaktion umfasst.

5 67. Verfahren nach Anspruch 66, wobei die Immunreaktion eine T-Zellen-Reaktion ist, umfassend die Produktion cytotytischer oder Cytokine-ausschüttenden T-Zellen, die spezifisch für die Wirtszellen sind, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon präsentieren oder spezifisch für Zellen des Patienten sind, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimieren.

68. Verfahren nach einem der Ansprüche 61-67, wobei die Wirtszellen nicht-proliferativ sind.

69. Verfahren zur Behandlung einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend:

- 15 (i) die Identifikation von Zellen aus dem Patienten, die abnormale Mengen des Tumor-assoziierten Antigens exprimieren,
- (ii) die Isolierung einer Probe der Zellen,
- (iii) die Kultivierung der Zellen, und
- (iv) das Einbringen der Zellen in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, eine Immunreaktion gegen die Zellen auszulösen, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:
- (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,
- 25 (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,
- (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und
- (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

30

70. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-69, wobei die Erkrankung Krebs ist.

71. Verfahren zur Hemmung der Entwicklung von Krebs bei einem Patienten, umfassend die Verabreichung einer wirksamen Menge einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-32.

5 72. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-71, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Aminosäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 9-19, 45-48, 60-66, 85, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist.

73. Nukleinsäure, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 3-5, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist
15 und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

74. Nukleinsäure, die für ein Protein oder Polypeptid kodiert, das eine Aminosäuresequenz umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 10, 12-14, einem Teil oder Derivat davon.

75. Rekombinantes DNA- oder RNA-Molekül, das eine Nukleinsäure nach Anspruch 73 oder 74 umfasst.

25 76. Rekombinantes DNA-Molekül nach Anspruch 75, wobei das rekombinante DNA-Molekül ein Vektor ist.

77. Rekombinantes DNA-Molekül nach Anspruch 76, wobei der Vektor ein viraler Vektor oder ein Bakteriophage ist.

30

78. Rekombinantes DNA-Molekül nach einem der Ansprüche 75-77, das ferner Expressionskontrollsequenzen umfasst, die die Expression der Nukleinsäure steuern.

79. Rekombinantes DNA-Molekül nach Anspruch 78, wobei die Expressionskontrollsequenzen homo- oder heterolog zu der Nukleinsäure sind.

80. Wirtszelle, die eine Nukleinsäure nach Anspruch 73 oder 74 oder ein rekombinantes DNA-Molekül nach einem der Ansprüche 75-79 umfasst.

81. Wirtszelle nach Anspruch 80, die ferner eine Nukleinsäure umfasst, die für ein HLA-Molekül kodiert.

82. Protein oder Polypeptid, das von einer Nukleinsäure nach Anspruch 73 kodiert wird.

83. Protein oder Polypeptid, das eine Aminosäuresequenz umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 10, 12-14, einem Teil oder Derivat davon.

84. Immunogenes Fragment des Proteins oder Polypeptids nach Anspruch 82 oder 83.

85. Fragment des Proteins oder Polypeptids nach Anspruch 82 oder 83, das an menschlichen HLA-Rezeptor oder menschlichen Antikörper bindet.

86. Mittel, das spezifisch an ein Protein oder Polypeptid oder an einen Teil davon bindet, wobei das Protein oder Polypeptid von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

87. Mittel nach Anspruch 86, wobei das Protein oder Polypeptid eine Aminosäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus SEQ ID NOs: 9-19, 45-48, 60-66, 85, einem Teil oder Derivat davon.

88. Mittel nach Anspruch 86 oder 87, wobei das Mittel ein Antikörper ist.

89. Mittel nach Anspruch 88, wobei der Antikörper ein monoklonaler, chimärer oder humanisierter Antikörper oder ein Fragment eines Antikörpers ist.

5

90. Antikörper, der selektiv an einen Komplex aus:

(i) einem Protein oder Polypeptid oder einem Teil davon und

(ii) einem MHC-Molekül bindet, an das das Protein oder Polypeptid oder der Teil davon bindet, wobei der Antikörper nicht alleine an (i) oder (ii) bindet und das Protein oder Polypeptid von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

15

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

91. Antikörper nach Anspruch 90, wobei das Protein oder Polypeptid eine Aminosäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus SEQ ID NOs: 9-19, 45-48, 60-66, 85, einem Teil oder Derivat davon.

92. Antikörper nach Anspruch 90 oder 91, wobei der Antikörper ein monoklonaler, chimärer oder humanisierter Antikörper oder ein Fragment eines Antikörpers ist.

25

93. Konjugat zwischen einem Mittel nach einem der Ansprüche 86-89 oder einem Antikörper nach einem der Ansprüche 90-92 und einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel.

30

94. Konjugat nach Anspruch 93, wobei das therapeutische oder diagnostische Mittel ein Toxin ist.

95. Kit zum Nachweis der Expression oder abnormalen Expression eines Tumor-assoziierten Antigens, umfassend Mittel zum Nachweis

(i) der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teils davon,

(ii) des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon,

5 (iii) von Antikörpern, die an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon binden, und/oder

(iv) von T-Zellen, die für einen Komplex zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem MHC-Molekül spezifisch sind, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

15 (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

96. Kit nach Anspruch 95, wobei die Mittel zum Nachweis der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teils davon Nukleinsäuremoleküle für die selektive Amplifikation der Nukleinsäure sind.

97. Kit nach Anspruch 96, wobei die Nukleinsäuremoleküle für die selektive Amplifikation der Nukleinsäure eine Sequenz von 6-50 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, umfassen.

98. Rekombinantes DNA-Molekül, umfassend eine Promotorregion, die von einer Nukleinsäuresequenz abgeleitet ist, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84 ausgewählt ist.

Zusammenfassung:

Erfindungsgemäß wurden Tumor-assoziiert exprimierte Genprodukte und die dafür kodierenden Nukleinsäuren identifiziert. Die vorliegende Erfindung betrifft die Therapie und Diagnose von Erkrankungen, bei denen diese Tumor-assoziiert exprimierten Genprodukte aberrant exprimiert werden. Des weiteren betrifft die Erfindung Proteine, Polypeptide und Peptide, die Tumor-assoziiert exprimiert werden und die dafür kodierenden Nukleinsäuren.

Abbildung 1.

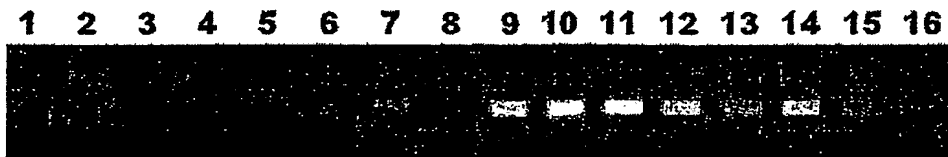


Abbildung 2.

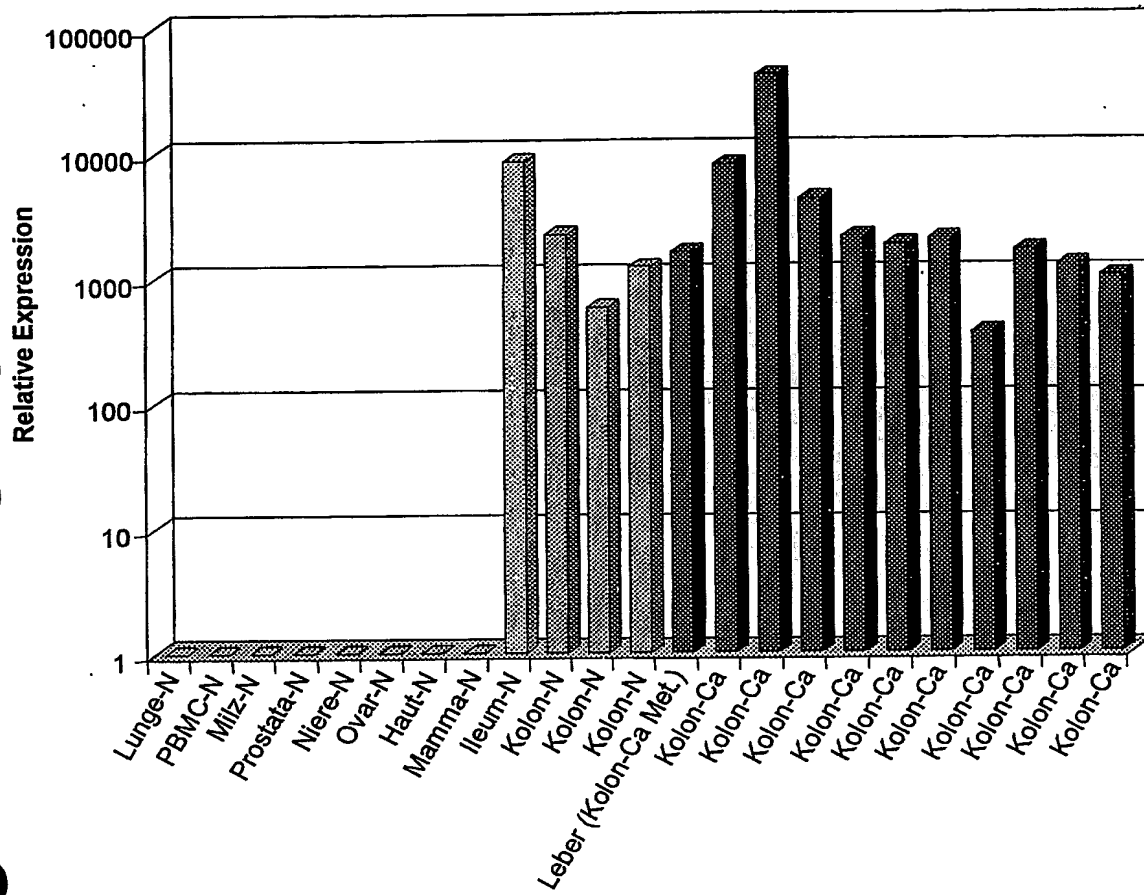


Abbildung 3.

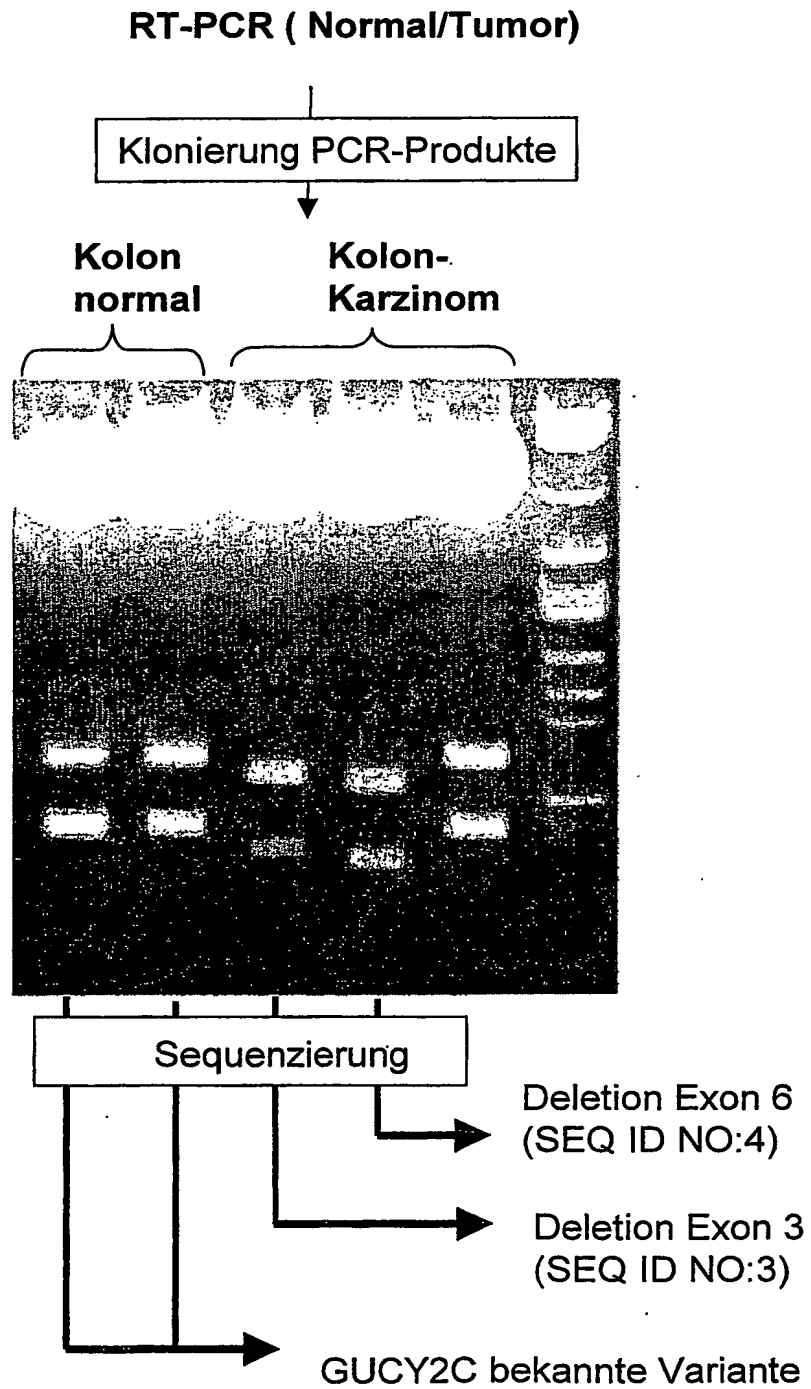


Abbildung 4.

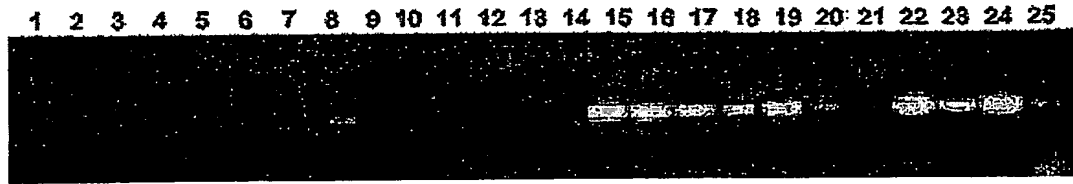


Abbildung 5.

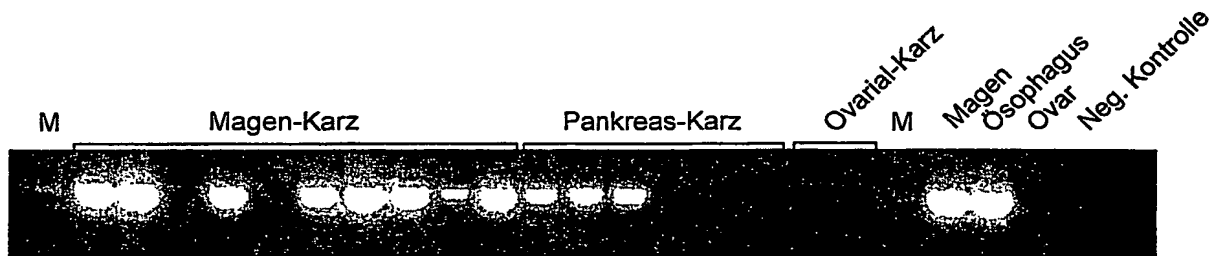


Abbildung 6.

Abbildung 7.

Kolon-Karz.

Magen-Karz.

NG

Kolon



Abbildung 8.

NG

|Kolon|

Kolonkarzinom



Abbildung 9.

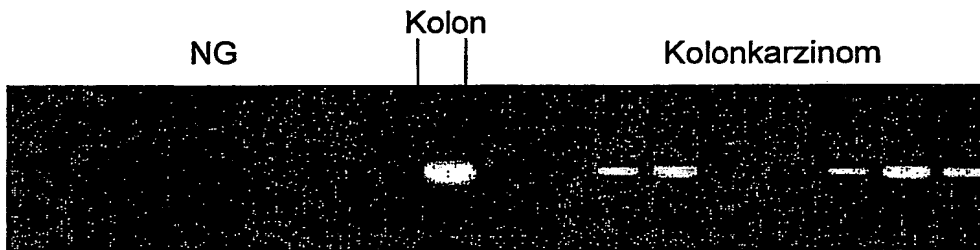


Abbildung 10.

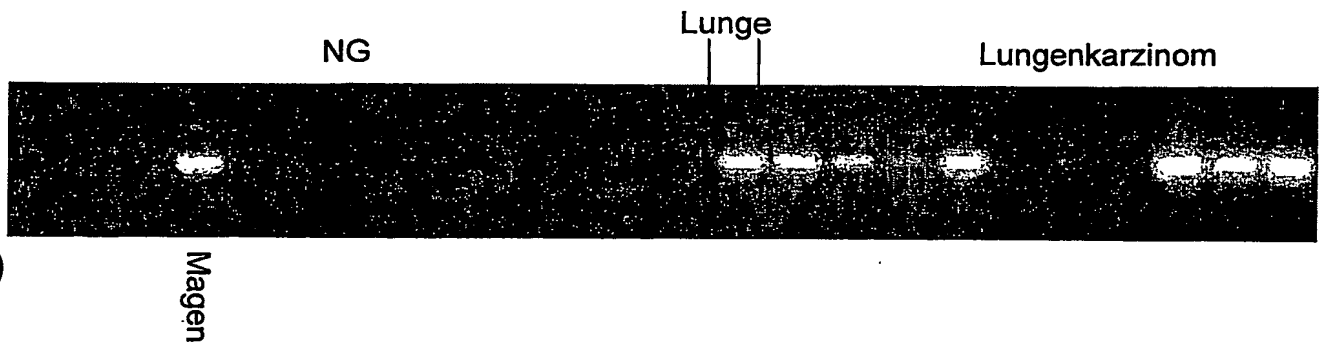


Abbildung 11.

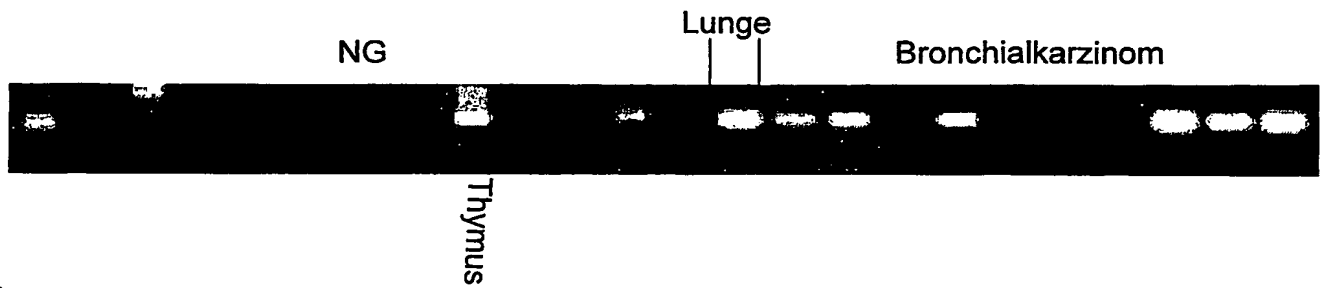


Abbildung 12.

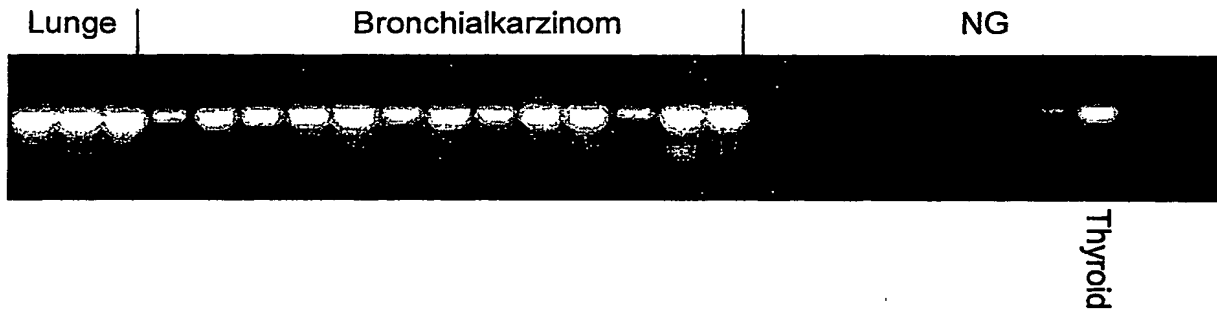


Abbildung 13.

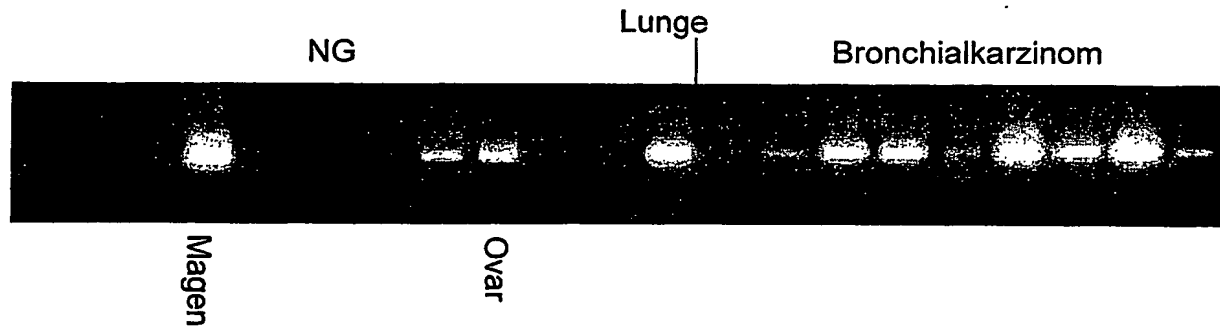


Abbildung 14.

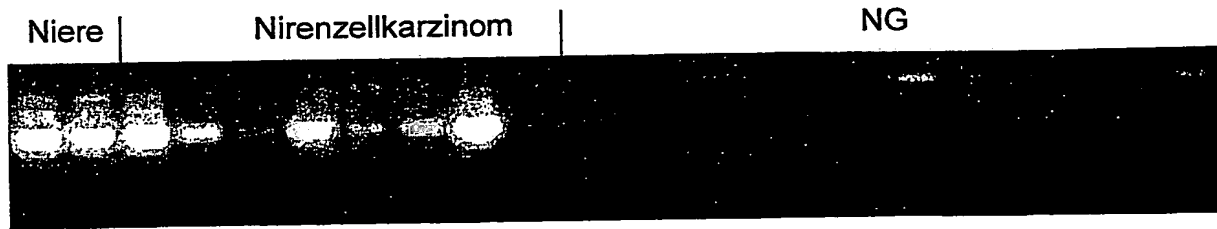


Abbildung 15.

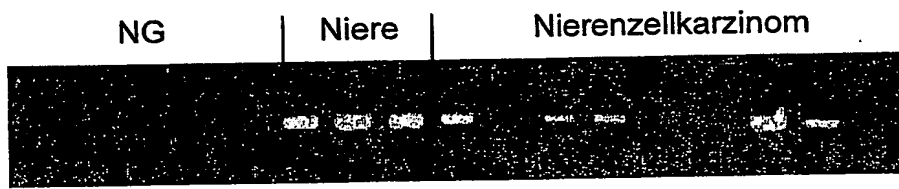
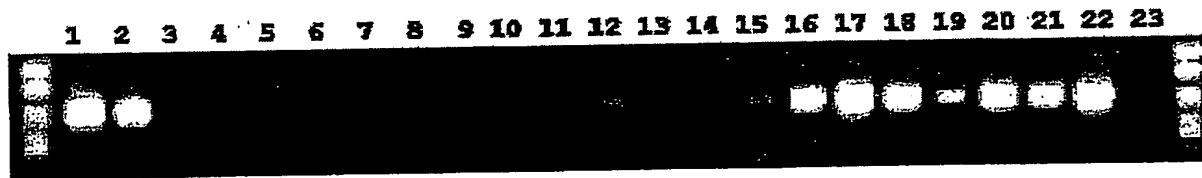


Abbildung 16.



SEQUENCE LISTING

<110> Ganymed Pharmaceuticals AG
 Sahin Dr., Ugur
 Tureci Dr., Özlem
 Koslowski Dr., Michael

<120> Differentiell in Tumoren exprimierte Genprodukte und deren Verwendung

<130> 342-4

<160> 87

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1875

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

| | |
|--|------|
| caggccagag tcccagctgt cctggactct gctgtgggga agggctgatg caggtgtgga | 60 |
| gtcaaatgtg ggtgcctcct gcagccgggt gccaggagggt gtggaggggc caccctgggc | 120 |
| tttgtccggg agcctggtct tcccgtcctt gggtgacag gtgctgctgc ctctgagccc | 180 |
| tccctgctaa gagctgtgtg ctgggtaagg ctgggtggccc tttgggctcc ctgtccagga | 240 |
| tttgtgctct ggagggtagg gcttgtctgg ctggggactg gaggggaacg tggagctcct | 300 |
| tctgcctcct ttccctgccc atgacagcag gcagatccca ggagagaaga gctcaggaga | 360 |
| tgggaagagg atctgtccag gggtagacc tcaagggtga cttggagtgc tttacggcac | 420 |
| atgctttc tttgaggagt tttgtgtttg tgggtgtggg gtcggggctc acctcctccc | 480 |
| acatccctgc ccagagggtg gcagagtggg ggcagtgcct tgcctccctc gctcgtctc | 540 |
| tgtgacctc cggtccctg tgcctgcccc ggacctgaa tggcacctac aacacctgtg | 600 |
| ctccagcga cctcacctgg ccccagcga tcaagctggg cttctacgcc tacttggggc | 660 |
| ctctgtggt gctaggcctg ctgctcaaca gctggcgct ctgggtgttc tgctgccga | 720 |
| tgcagcagtg gacggagacc cgcctctaca tgaccaacct ggcggtggcc gacctctgcc | 780 |
| tgctgtgcac cttgcccttc gtgctgcaact cctgcgaga cacctcagac acgcccgtgt | 840 |
| gccagctctc ccagggcatc tacctgacca acaggtacat gagcatcagc ctggtcacgg | 900 |
| ccatcgccgt ggaccgctat gtggccgtgc ggcacccgct gcgtgcccgc gggctgcgg | 960 |
| ccccaggca ggctgcggcc gtgtgcgcgg tcctctgggt gctggctcgc ggctccctgg | 1020 |
| tggtctgctg gctcctgggg attcaggagg gcggcttctg cttcaggagc acccggcaca | 1080 |
| atttcaactc catggcgctc ccgctgctgg gattctacct gcccctggcc gtgggtggtct | 1140 |
| tctgctccct gaagggtgtg actgccctgg ccagaggcc acccaccgac gtggggcagg | 1200 |
| cagaggccac ccgcaaggct gcccgcatgg tctgggcaa cctcctggtg ttctggtct | 1260 |

gcttcctgcc cctgcacgtg gggctgacag tgcgcctcgc agtgggctgg aäcgcctgtg 1320
 cöctcctgga gacgatccgt cgcgcöcctgt acataaccag caagctctca gatgccaact 1380
 gctgcctgga cgccatctgc tactactaca tggccaagga gttccaggag gcgtctgcac 1440
 tggccgtggc tcccagtgt aaggcccaca aaagccagga ctctctgtgc gtgaccctcg 1500
 cctaagaggc gtgctgtggg cgctgtgggc caggtctcgg gggctccggg aggtgctgcc 1560
 tgccagggga agctggaacc agtagcaagg agcccgggat cagccctgaa ctactgtgt 1620
 attctcttgg agccttgggt gggcagggac ggcccaggta cctgctctct tgggaagaga 1680
 gagggacagg gacaagggca agaggactga ggccagagca aggccaatgt cagagacccc 1740
 cgggatgggg cctcacactt gccaccccca gaaccagctc acctggccag agtggggttc 1800
 gctggccag ggtgcagcct tgatgacacc tgccgctgcc cctcggggct ggaataaaac 1860
 tccccacca gagtc 1875

<210> 2
 <211> 3222
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 2
 atgaagacgt tgctgttga cttggctttg tggctactgc tcttccagcc cgggtggctg 60
 tccttttagtt ccaggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg 120
 atgatgggca actcagcctt tgcagagccc ctgaaaaact tggagatgc ggtgaatgag 180
 ggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct 240
 actttcatgt attcgatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt 300
 gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca aatgcacaac ggatgggctg tgtcctcata 360
 ggccctcat gtacatactc caccttccag atgtaccttg acacagaatt gagctacccc 420
 atgatctcag ctggaagttt tggattgtca tgtgactata aagaaacctt aaccaggctg 480
 atgtctccag ctagaaagtt gatgtacttc ttggttaact ttgggaaaac caacgatctg 540
 cccttcaaaa cttattcctg gagcacttcg tatgtttaca agaatggtag agaaactgag 600
 gactgtttct ggtaccttaa tgctctggag gctagcgttt cctattttct ccacgaactc 660
 ggctttaagg tgggtgtaag acaagataag gagtttcagg atatcttaat ggaccacaac 720
 aggaaaagca atgtgattat tatgtgtggt ggtccagagt tcctctacaa gctgaagggt 780
 gaccgagcag tggctgaaga cattgtcatt attctagtgg atcttttcaa tgaccagtac 840
 ttggaggaca atgtcacagc cctgactat atgaaaaatg tccttgttct gacgtgtct 900
 cctgggaatt cccttctaaa tagctctttc tccaggaatc tatcaccaac aaaacgagac 960
 tttgctcttg cctatttgaa tggaatcctg ctctttggac atatgctgaa gatatttctt 1020

gaaaatggag aaaatattac ccccccaaa tttgctcatg ctttcaggaa tctcactttt 1080
 gaagggatg acgggtccagt gaccttggat gactgggggg atgttgacag taccatgggtg 1140
 cttctgtata cctctgtgga caccaagaaa tacaagggtc ttttgaccta tgatacccac 1200
 gtaaataaga cctatcctgt ggatatgagc cccacattca cttggaagaa ctctaaactt 1260
 cctaatagata ttacaggccg gggccctcag atcctgatga ttgcagtctt caccctcact 1320
 ggagctgtgg tgctgctcct gctcgtcgtc ctctgatgc tcagaaaata tagaaaagat 1380
 tatgaacttc gtcagaaaaa atgggtccac attcctcctg aaaatatctt tcctctggag 1440
 accaatgaga ccaatcatgt tagcctcaag atcgatgatg acaaaagacg agatacaatc 1500
 cagagactac gacagtgcaa atacgacaaa aagcgagtga ttctcaaaga tctcaagcac 1560
 atgatggta atttactga aaaacagaag atagaattga acaagttgct tcagattgac 1620
 tattacaacc tgaccaagtt ctacggcaca gtgaaacttg ataccatgat cttcgggggtg 1680
 tagaatact gtgagagagg atccctccgg gaagttttaa atgacacaat ttcctaccct 1740
 gatggcacat tcatggattg ggagtttaag atctctgtct tgtatgacat tgctaaggga 1800
 atgtcatatc tgcaactccag taagacagaa gtccatggtc gtctgaaatc taccaactgc 1860
 gtagtggaca gtagaatggt ggtgaagatc actgattttg gctgcaattc cattttacct 1920
 ccaaaaaagg acctgtggac agctccagag cacctccgcc aagccaacat ctctcagaaa 1980
 ggagatgtgt acagctatgg gatcatcgca caggagatca ttctgcggaa agaaaccttc 2040
 tacactttga gctgtcggga ccggaatgag aagattttca gagtggaaaa ttccaatgga 2100
 ctgaaacctc tccgccaga tttattcttg gaaacagcag aggaaaaaga gctagaagtg 2160
 tacctacttg taaaaaactg ttgggaggaa gatccagaaa agagaccaga tttcaaaaaa 2220
 attgagacta cacttgccaa gatatttgga ctttttcatg accaaaaaaa tgaaagctat 2280
 ttggatacct tgatccgacg tctacagcta tattctcgaa acctggaaca tctggtagag 2340
 gaaaggacac agctgtacaa ggcagagagg gacagggctg acagacttaa ctttatgttg 2400
 cttccaaggc tagtggtaaa gtctctgaag gagaaaggct ttgtggagcc ggaactatat 2460
 gaggaagtta caatctactt cagtgcatt gtaggtttca ctactatctg caaatacagc 2520
 acccccatgg aagtgggtga catgcttaat gacatctata agagttttga ccacattggt 2580
 gatcatcatg atgtctacaa ggtggaaacc atcggtgatg cgtacatggt ggctagtgg 2640
 ttgcctaaga gaaatggcaa tcggcatgca atagacattg ccaagatggc cttggaaatc 2700
 ctcagcttca tggggacott tgagctggag catcttctcgt gcctcccaat atggattcgc 2760
 attggagttc actctggtcc ctgtgctgct ggagttgtgg gaatcaagat goctcgttat 2820
 tgtctatttg gagatacggc caacacagcc tctaggatgg aatccactgg cctccctttg 2880
 agaattcacg tgagtggctc caccatagcc atcctgaaga gaactgagtg ccagttcctt 2940

tatgaagtga gaggagaaac atacttaaag ggaagaggaa atgagactac ctactggctg 3000
 actgggatga aggaccagaa attcaacctg ccaaccctc ctactgtgga gaatcaacag 3060
 cgtttgcaag cagaattttc agacatgatt gccaaactctt tacagaaaag acaggcagca 3120
 gggataagaa gccaaaaacc cagacgggta gccagctata aaaaaggcac tctggaatac 3180
 ttgcagctga ataccacaga caaggagagc acctattttt aa 3222

<210> 3
 <211> 336
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

100> 3
 atgaagacgt tgctgttgga cttggctttg tggctactgc tcttccagcc cgggtggctg 60
 tccttttagtt cccaggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg 120
 t gatgggca actcagcctt tgcagagccc ctgaaaaact tggaagatgc ggtgaatgag 180
 gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct 240
 actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt 300
 gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca ccttga 336

<210> 4
 <211> 777
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

100> 4
 atgaagacgt tgctgttgga cttggctttg tggctactgc tcttccagcc cgggtggctg 60
 tccttttagtt cccaggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg 120
 t gatgggca actcagcctt tgcagagccc ctgaaaaact tggaagatgc ggtgaatgag 180
 gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct 240
 actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt 300
 gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca aatgcacaac ggatgggctg tgtcctcata 360
 gggccctcat gtacatactc caccttccag atgtaccttg acacagaatt gagctacccc 420
 atgatctcag ctggaagttt tggattgtca tgtgactata aagaaacctt aaccaggctg 480
 atgtctccag ctagaaagtt gatgtacttc ttggttaact tttggaaaac caacgatctg 540
 cccttcaaaa cttattcctg gagcacttcg tatgtttaca agaatggtag agaaactgag 600
 gactgtttct ggtaccttaa tgctctggag gctagcgttt cctatttctc ccacgaactc 660
 ggctttaagg tgggtgtaag acaagataag gagtttcagg atatcttaat ggaccacaac 720
 aggaaaagca atgtgaccag tacttgaggg acaatgtcac agccctgac tatatga 777

<210> 5
 <211> 3213
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 5
 atgaagacgt tgctgttgga cttggctttg tggctcactgc tcttccagcc cgggtggctg 60
 tccttttagtt ccaggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg 120
 atgatgggca actcagcctt tgcagagccc ctgaaaaact tggagatgc ggtgaatgag 180
 gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct 240
 actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt 300
 aggcctcg acctactcag gaaaatttca aatgcacaac ggatgggctg tgtcctcata 360
 gggccctcat gtacatactc caccttcag atgtacctg acacagaatt gagctacccc 420
 tgatctcag ctggaagttt tggattgtca tgtgactata aagaaacctt aaccaggctg 480
 atgtctccag ctagaaagtt gatgtacttc ttggttaact tttggaaaac caacgatctg 540
 cccttcaaaa cttattcctg gagcacttcg tatgtttaca agaatggtac agaaactgag 600
 gactgtttct ggtaccttaa tgctctggag gctagcgttt cctatttctc ccacgaactc 660
 ggctttaagg tgggtgtaag acaagataag gagtttcagg atatcttaat ggaccacaac 720
 aggaaaagca atgtgattat tatgtgtggt ggtccagagt tcctctacaa gctgaagggt 780
 gaccgagcag tggctgaaga cattgtcatt attctagtgg atcttttcaa tgaccagtac 840
 ggaggaca atgtcacagc ccctgactat atgaaaaatg tccttgttct gacgtgtct 900
 cctgggaatt cccttctaaa tagctctttc tccaggaatc tatcaccaac aaaacgagac 960
 tttgctcttg cctatttgaa tggaaatcctg ctctttggac atatgctgaa gatatttctt 1020
 aaatggag aaatattac ccccccaaa tttgctcatg ctttcaggaa tctcactttt 1080
 gaagggtatg acggtccagt gaccttggat gactgggggg atgttgacag taccatgggtg 1140
 cttctgtata cctctgtgga caccaagaaa tacaaggttc ttttgacctg tgataccac 1200
 gtaaataaga cctatcctgt ggatatgagc cccacattca ctggaagaa ctctaaactt 1260
 cctaatagata ttacaggcgg gggccctcag atcctgatga ttgcagtctt caccctcact 1320
 ggagctgtgg tgctgtcct gctcgtcgt ctctgatgc tcagaaaata tagaaaagat 1380
 tatgaacttc gtcagaaaaa atgggtccac attcctcctg aaaatatctt tcctctggag 1440
 accaatgaga ccaatcatgt tagcctcaag atcgatgatg acaaagacg agatacaatc 1500
 cagagactac gacagtgcaa atacgacaaa aagcgagtga ttctcaaaga tctcaagcac 1560
 aatgatggta atttactga aaaacagaag atagaattga acaagattga ctattacaac 1620
 ctgaccaagt tctacggcac agtgaaactt gataccatga tcttcggggg gatagaatac 1680

tgtgagagag gatccctccg ggaagtttta aatgacacaa tttcctaccc tgatggcaca 1740
 ttcattggatt gggagtttta gatctctgtc ttgtatgaca ttgctaaggg aatgtcatat 1800
 ctgcactcca gtaagacaga agtccatggc cgtctgaaat ctaccaactg cgtagtggac 1860
 agtagaatgg tggatgaagat cactgatttt ggctgcaatt ccattttacc tccaaaaaag 1920
 gacctgtgga cagctccaga gcacctccgc caagccaaca tctctcagaa aggagatgtg 1980
 tacagctatg ggatcatgc acaggagatc attctgcgga aagaaacctt ctacactttg 2040
 agctgtcggg accggaatga gaagattttc agagtggaaa attccaatgg aatgaaaccc 2100
 ttccgcccag atttattctt ggaaacagca gaggaaaaag agctagaagt gtacctactt 2160
 gtaaaaaact gttgggagga agatccagaa aagagaccag atttcaaaaa aattgagact 2220
 acacttgcca agatatttgg actttttcat gaccaaaaaa atgaaagcta tatggatacc 2280
 ttgatccgac gtctacagct atattctcga aacctggaac atctggtaga ggaaaggaca 2340
 cagctgtaca aggagagag ggacagggct gacagactta actttatgtt gcttccaagg 2400
 ctagtggtaa agtctctgaa ggagaaaggc tttgtggagc cggaactata tgaggaagtt 2460
 acaatctact tcagtgcacat tgtaggtttc actactatct gcaaatacag ccccccatg 2520
 gaagtgggtg acatgcttaa tgacatctat aagagttttg accacattgt tgatcatcat 2580
 gatgtctaca aggtggaaac catcgggtgat gcgtacatgg tggctagtgg tttgcctaag 2640
 agaaatggca atcggcatgc aatagacatt gccagatgg ccttggaaat cctcagcttc 2700
 atggggacct ttgagctgga gcattcttcc ggcctcccaa tatggattcg cattggagtt 2760
 cactctgtgc cctgtgtgc tggagttgtg ggaatcaaga tgcctcgtta ttgtctattt 2820
 ggagatacgg tcaacacagc ctctaggatg gaatccactg gcctcccttt gagaattcac 2880
 gtgagtggct ccaccatagc catcctgaag agaactgagt gccagttcct ttatgaagtg 2940
 agaggagaaa catacttaaa gggaagagga aatgagacta cctactggct gactgggatg 3000
 aaggaccaga aattcaacct gccaacccct cctactgtgg agaataca gcgtttgcaa 3060
 gcagaatttt cagacatgat tgccaactct ttacagaaaa gacaggcagc agggataaga 3120
 agccaaaaac ccagacgggt agccagctat aaaaaaggca ctctggaata cttgcagctg 3180
 aataccacag acaaggagag cacctatttt taa 3213

<210> 6
 <211> 3213
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 6
 atgaagacgt tgctgttgga cttggctttg tggctactgc tcttcagcc cgggtggctg 60
 tccttttagtt ccaggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg 120

| | |
|---|------|
| atgatgggca actcagcctt tgcagagccc ctgaaaaact tggaagatgc ggtgaatgag | 180 |
| gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct | 240 |
| actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt | 300 |
| gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca aatgcacaac ggatgggctg tgtcctcata | 360 |
| gggccctcat gtacatactc caccttcocag atgtaccttg acacagaatt gagctacccc | 420 |
| atgatctcag ctggaagttt tggattgtca tgtgactata aagaaacctt aaccaggctg | 480 |
| atgtctccag ctagaaagtt gatgtacttc ttggttaact tttggaaaac caacgatctg | 540 |
| cccttcaaaa cttattcctg gagcacttcg tatgtttaca agaattgtac agaaactgag | 600 |
| gactgtttct ggtaccttaa tgcctctggag gctagcgttt cctatttctc ccacgaactc | 660 |
| ggctttaagg tgggtttaag acaagataag gagtttcagg atatcttaat ggaccacaac | 720 |
| aggaaaagca atgtgattat tatgtgtggt ggtccagagt tcctctacaa gctgaagggt | 780 |
| gaccgagcag tggctgaaga cattgtcatt attctagtgg atcttttcaa tgaccagtac | 840 |
| ttggaggaca atgtcacagc cctgactat atgaaaaatg tccttgttct gacgctgtct | 900 |
| cctgggaatt cccttctaaa tagctcttct tccaggaatc tatcaccaac aaaacgagac | 960 |
| tttgctcttg cctatttgaa tggaaatcctg ctctttggac atatgctgaa gatatttctt | 1020 |
| gaaaatggag aaaatattac caccctcaaa tttgctcatg ctttcaggaa tctcactttt | 1080 |
| gaagggtatg acgggtccagt gaccttggat gactgggggg atgttgacag taccatgggtg | 1140 |
| cttctgtata cctctgtgga caccaagaaa tacaaggttc ttttgaccta tgatacccac | 1200 |
| gtaaataaga cctatcctgt ggatatgagc cccacattca cttggaagaa ctctaaactt | 1260 |
| cctaatagata ttacaggccg gggccctcag atcctgatga ttgcagtctt caccctcact | 1320 |
| ggagctgtgg tgcctgtcct gctcgtcgtc ctctgatgc tcagaaaata tagaaaagat | 1380 |
| tatgaacttc gtcagaaaaa atggtccac attcctcctg aaaatatctt tcctctggag | 1440 |
| accaatgaga ccaatcatgt tagcctcaag atcgatgatg acaaaaagacg agatacaatc | 1500 |
| cagagactac gacagtgcaa atacgacaaa aagcgagtga ttctcaaaga tctcaagcac | 1560 |
| aatgatggta atttactga aaaacagaag atagaattga acaagattga ctattacaac | 1620 |
| ctgaccaagt tctacggcac agtgaaactt gataccatga tcttcggggg gatagaatac | 1680 |
| tgtgagagag gatccctccg ggaagtttta aatgacacaa tttcctaccc tgatggcaca | 1740 |
| ttcatggatt gggagttaa gatctctgtc ttgtatgaca ttgctaaggg aatgtcatat | 1800 |
| ctgcactcca gtaagacaga agtccatggg cgtctgaaat ctaccaactg cgtagtggac | 1860 |
| agtagaatgg tgggtaagat cactgatttt ggctgcaatt ccattttacc tccaaaaaag | 1920 |
| gacctgtgga cagctccaga gcacctccgc caagccaaca tctctcagaa aggagatgtg | 1980 |
| tacagctatg ggatcatcgc acaggagatc attctgcgga aagaaacctt ctacactttg | 2040 |

agctgtcggg accggaatga gaagattttc agagtggaaa attccaatgg aatgaaaccc 2100
 ttccgcccag atttattctt ggaaacagca gaggaaaaag agctagaagt gtacctactt 2160
 gtaaaaaact gttgggagga agatccagaa aagagaccag atttcaaaaa aattgagact 2220
 acacttgcca agatatttgg actttttcat gaccaaaaaa atgaaagcta tatggatacc 2280
 ttgatccgac gtctacagct atattctcga aacctggaac atctggtaga ggaaaggaca 2340
 cagctgtaca aggcagagag ggacagggct gacagactta actttatgtt gcttccaagg 2400
 ctagtggtta agtctctgaa ggagaaaggc tttgtggagc cggaactata tgaggaagtt 2460
 acaatctact tcagtgcacat tgtaggtttc actactatct gcaaatacag caccctcatg 2520
 aagtggtgg acatgcttaa tgacatctat aagagttttg accacattgt tgatcatcat 2580
 gatgtctaca aggtggaaac catcgggtgat gcgtacatgg tggctagtgg tttgcctaag 2640
 agaaatggca atcggcatgc aatagacatt gccaaatgg ccttggaaat cctcagcttc 2700
 atggggacct ttgagctgga gcatcttcct ggcctcccaa tatggattcg cattggagtt 2760
 cactctggtc cctgtgctgc tggagttgtg ggaatcaaga tgccctcgta ttgtctattt 2820
 ggagatacgg tcaacacagc ctctaggatg gaatccactg gcctcccttt gagaattcac 2880
 gtgagtggtt ccaccatagc catcctgaag agaactgagt gccagttcct ttatgaagtg 2940
 agaggagaaa catacttaaa gggaagagga aatgagacta cctactggct gactgggatg 3000
 aaggaccaga aattcaacct gccaaacct cctactgtgg agaataca gcgtttgcaa 3060
 cagaatttt cagacatgat tgccaactct ttacagaaaa gacaggcagc agggataaga 3120
 agccaaaaac ccagacgggt agccagctat aaaaaaggca ctctggaata cttgcagctg 3180
 aataccacag acaaggagag cacctatttt taa 3213

<210> 7
 <211> 786
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 7
 atggccgtga ctgcctgtca gggcttgggg ttctgtggtt cactgattgg gattgcgggc 60
 atcattgctg ccacctgcac ggaccagtgg agcaccacag acttgtacaa caaccccgta 120
 acagctgttt tcaactacca ggggctgtgg cgctcctgtg tccgagagag ctctggcttc 180
 accgagtgcc ggggctactt caccctgctg gggctgccag ccatgctgca ggcagtgcga 240
 gccctgatga tcgtaggcat cgtcctgggt gccattggcc tcctgggtatc catctttgcc 300
 ctgaaatgca tccgcattgg cagcatggag gactctgcca aagccaacat gacactgacc 360
 tccgggatca tgttcattgt ctcaggtctt tgtgcaattg ctggagtgtc tgtgtttgcc 420
 aacatgctgg tgactaactt ctggatgtcc acagctaaca tgtacaccgg catgggtggg 480

atggtgcaga ctgttcagac caggtacaca tttggtgcgg ctctgttcgt gggctgggtc 540
 gctggaggcc tcacactaat tgggggtgtg atgatgtgca tcgcctgccg gggcctggca 600
 ccagaagaaa ccaactacaa agccgtttct tatcatgcct caggccacag tgttgcctac 660
 aagcctggag gcttcaaggc cagcactggc tttgggtcca acacaaaaa caagaagata 720
 tacgatggag gtgcccgcac agaggacgag gtacaatctt atccttccaa gcacgactat 780
 gtgtaa 786

<210> 8
 <211> 180
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 8
 tgcgccacca tggccgtgac tgccctgtcag ggcttggggg tctgtggtttc actgattggg 60
 attgcgggca tcattgctgc cacctgcatg gaccagtggg gcacccaaga cttgtacaac 120
 aaccccgtaa cagctgtttt caactaccag gggctgtggc gctcctgtgt ccgagagagc 180

<210> 9
 <211> 309
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 9

Met Asn Gly Thr Tyr Asn Thr Cys Gly Ser Ser Asp Leu Thr Trp Pro
 1 5 10 15

Pro Ala Ile Lys Leu Gly Phe Tyr Ala Tyr Leu Gly Val Leu Leu Val
 20 25 30

Leu Gly Leu Leu Leu Asn Ser Leu Ala Leu Trp Val Phe Cys Cys Arg
 35 40 45

Met Gln Gln Trp Thr Glu Thr Arg Ile Tyr Met Thr Asn Leu Ala Val
 50 55 60

Ala Asp Leu Cys Leu Leu Cys Thr Leu Pro Phe Val Leu His Ser Leu
 65 70 75 80

Arg Asp Thr Ser Asp Thr Pro Leu Cys Gln Leu Ser Gln Gly Ile Tyr
 85 90 95

Leu Thr Asn Arg Tyr Met Ser Ile Ser Leu Val Thr Ala Ile Ala Val
 100 105 110

Asp Arg Tyr Val Ala Val Arg His Pro Leu Arg Ala Arg Gly Leu Arg

115

120

125

Ser Pro Arg Gln Ala Ala Ala Val Cys Ala Val Leu Trp Val Leu Val
 130 135 140

Ile Gly Ser Leu Val Ala Arg Trp Leu Leu Gly Ile Gln Glu Gly Gly
 145 150 155 160

Phe Cys Phe Arg Ser Thr Arg His Asn Phe Asn Ser Met Arg Phe Pro
 165 170 175

Leu Leu Gly Phe Tyr Leu Pro Leu Ala Val Val Val Phe Cys Ser Leu
 180 185 190

Lys Val Val Thr Ala Leu Ala Gln Arg Pro Pro Thr Asp Val Gly Gln
 195 200 205

Ala Glu Ala Thr Arg Lys Ala Ala Arg Met Val Trp Ala Asn Leu Leu
 210 215 220

Val Phe Val Val Cys Phe Leu Pro Leu His Val Gly Leu Thr Val Arg
 225 230 235 240

Leu Ala Val Gly Trp Asn Ala Cys Ala Leu Leu Glu Thr Ile Arg Arg
 245 250 255

Ala Leu Tyr Ile Thr Ser Lys Leu Ser Asp Ala Asn Cys Cys Leu Asp
 260 265 270

Ala Ile Cys Tyr Tyr Tyr Met Ala Lys Glu Phe Gln Glu Ala Ser Ala
 275 280 285

Leu Ala Val Ala Pro Arg Ala Lys Ala His Lys Ser Gln Asp Ser Leu
 290 295 300

Cys Val Thr Leu Ala
 305

<210> 10
 <211> 394
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 10

Met Thr Ala Gly Arg Ser Gln Glu Arg Arg Ala Gln Glu Met Gly Arg
 1 5 10 15

Gly Ser Val Gln Gly Leu Asp Leu Lys Gly Asp Leu Glu Phe Phe Thr

20

25

30

Ala Pro Met Leu Ser Leu Arg Ser Phe Val Phe Val Gly Val Gly Ser
 35 40 45

Gly Leu Thr Ser Ser His Ile Pro Ala Gln Arg Trp Ala Glu Trp Gly
 50 55 60

Gln Cys Leu Ala Pro Pro Ala Arg Ser Leu Leu Thr Ser Gly Ser Leu
 65 70 75 80

Cys Cys Pro Arg Thr Met Asn Gly Thr Tyr Asn Thr Cys Gly Ser Ser
 85 90 95

Asp Leu Thr Trp Pro Pro Ala Ile Lys Leu Gly Phe Tyr Ala Tyr Leu
 100 105 110

Gly Val Leu Leu Val Leu Gly Leu Leu Leu Asn Ser Leu Ala Leu Trp
 115 120 125

Val Phe Cys Cys Arg Met Gln Gln Trp Thr Glu Thr Arg Ile Tyr Met
 130 135 140

Thr Asn Leu Ala Val Ala Asp Leu Cys Leu Leu Cys Thr Leu Pro Phe
 145 150 155 160

Val Leu His Ser Leu Arg Asp Thr Ser Asp Thr Pro Leu Cys Gln Leu
 165 170 175

Ser Gln Gly Ile Tyr Leu Thr Asn Arg Tyr Met Ser Ile Ser Leu Val
 180 185 190

Thr Ala Ile Ala Val Asp Arg Tyr Val Ala Val Arg His Pro Leu Arg
 195 200 205

Ala Arg Gly Leu Arg Ser Pro Arg Gln Ala Ala Val Cys Ala Val
 210 215 220

Leu Trp Val Leu Val Ile Gly Ser Leu Val Ala Arg Trp Leu Leu Gly
 225 230 235 240

Ile Gln Glu Gly Gly Phe Cys Phe Arg Ser Thr Arg His Asn Phe Asn
 245 250 255

Ser Met Ala Phe Pro Leu Leu Gly Phe Tyr Leu Pro Leu Ala Val Val
 260 265 270

Val Phe Cys Ser Leu Lys Val Val Thr Ala Leu Ala Gln Arg Pro Pro
 275 280 285

Thr Asp Val Gly Gln Ala Glu Ala Thr Arg Lys Ala Ala Arg Met Val
 290 295 300

Trp Ala Asn Leu Leu Val Phe Val Val Cys Phe Leu Pro Leu His Val
 305 310 315 320

Gly Leu Thr Val Arg Leu Ala Val Gly Trp Asn Ala Cys Ala Leu Leu
 325 330 335

Glu Thr Ile Arg Arg Ala Leu Tyr Ile Thr Ser Lys Leu Ser Asp Ala
 340 345 350

Asn Cys Cys Leu Asp Ala Ile Cys Tyr Tyr Tyr Met Ala Lys Glu Phe
 355 360 365

Gln Glu Ala Ser Ala Leu Ala Val Ala Pro Ser Ala Lys Ala His Lys
 370 375 380

Ser Gln Asp Ser Leu Cys Val Thr Leu Ala
 385 390

<210> 11
 <211> 1073
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 11

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln
 1 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn
 20 25 30

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala
 35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile
 50 55 60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala
 65 70 75 80

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg
 85 90 95

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Asn Ala
 100 105 110

Gln Arg Met Gly Cys Val Leu Ile Gly Pro Ser Cys Thr Tyr Ser Thr
 115 120 125

Phe Gln Met Tyr Leu Asp Thr Glu Leu Ser Tyr Pro Met Ile Ser Ala
 130 135 140

Gly Ser Phe Gly Leu Ser Cys Asp Tyr Lys Glu Thr Leu Thr Arg Leu
 145 150 155 160

Met Ser Pro Ala Arg Lys Leu Met Tyr Phe Leu Val Asn Phe Trp Lys
 165 170 175

Thr Asn Asp Leu Pro Phe Lys Thr Tyr Ser Trp Ser Thr Ser Tyr Val
 180 185 190

Tyr Lys Asn Gly Thr Glu Thr Glu Asp Cys Phe Trp Tyr Leu Asn Ala
 195 200 205

Leu Glu Ala Ser Val Ser Tyr Phe Ser His Glu Leu Gly Phe Lys Val
 210 215 220

Val Leu Arg Gln Asp Lys Glu Phe Gln Asp Ile Leu Met Asp His Asn
 225 230 235 240

Arg Lys Ser Asn Val Ile Ile Met Cys Gly Gly Pro Glu Phe Leu Tyr
 245 250 255

Lys Leu Lys Gly Asp Arg Ala Val Ala Glu Asp Ile Val Ile Ile Leu
 260 265 270

Val Asp Leu Phe Asn Asp Gln Tyr Leu Glu Asp Asn Val Thr Ala Pro
 275 280 285

Asp Tyr Met Lys Asn Val Leu Val Leu Thr Leu Ser Pro Gly Asn Ser
 290 295 300

Leu Leu Asn Ser Ser Phe Ser Arg Asn Leu Ser Pro Thr Lys Arg Asp
 305 310 315 320

Phe Ala Leu Ala Tyr Leu Asn Gly Ile Leu Leu Phe Gly His Met Leu
 325 330 335

Lys Ile Phe Leu Glu Asn Gly Glu Asn Ile Thr Thr Pro Lys Phe Ala
 340 345 350

His Ala Phe Arg Asn Leu Thr Phe Glu Gly Tyr Asp Gly Pro Val Thr
 355 360 365

Leu Asp Asp Trp Gly Asp Val Asp Ser Thr Met Val Leu Leu Tyr Thr
 370 375 380

Ser Val Asp Thr Lys Lys Tyr Lys Val Leu Leu Thr Tyr Asp Thr His
 385 390 395 400

Val Asn Lys Thr Tyr Pro Val Asp Met Ser Pro Thr Phe Thr Trp Lys
 405 410 415

Asn Ser Lys Leu Pro Asn Asp Ile Thr Gly Arg Gly Pro Gln Ile Leu
 420 425 430

Met Ile Ala Val Phe Thr Leu Thr Gly Ala Val Val Leu Leu Leu Leu
 435 440 445

Val Ala Leu Leu Met Leu Arg Lys Tyr Arg Lys Asp Tyr Glu Leu Arg
 450 455 460

Gln Lys Lys Trp Ser His Ile Pro Pro Glu Asn Ile Phe Pro Leu Glu
 465 470 475 480

Thr Asn Glu Thr Asn His Val Ser Leu Lys Ile Asp Asp Asp Lys Arg
 485 490 495

Arg Asp Thr Ile Gln Arg Leu Arg Gln Cys Lys Tyr Asp Lys Lys Arg
 500 505 510

Val Ile Leu Lys Asp Leu Lys His Asn Asp Gly Asn Phe Thr Glu Lys
 515 520 525

Gln Lys Ile Glu Leu Asn Lys Leu Leu Gln Ile Asp Tyr Tyr Asn Leu
 530 535 540

Thr Lys Phe Tyr Gly Thr Val Lys Leu Asp Thr Met Ile Phe Gly Val
 545 550 555 560

Ile Glu Tyr Cys Glu Arg Gly Ser Leu Arg Glu Val Leu Asn Asp Thr
 565 570 575

Ile Ser Tyr Pro Asp Gly Thr Phe Met Asp Trp Glu Phe Lys Ile Ser
 580 585 590

Val Leu Tyr Asp Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr Leu His Ser Ser Lys
 595 600 605

Thr Glu Val His Gly Arg Leu Lys Ser Thr Asn Cys Val Val Asp Ser
610 615 620

Arg Met Val Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Cys Asn Ser Ile Leu Pro
625 630 635 640

Pro Lys Lys Asp Leu Trp Thr Ala Pro Glu His Leu Arg Gln Ala Asn
645 650 655

Ile Ser Gln Lys Gly Asp Val Tyr Ser Tyr Gly Ile Ile Ala Gln Glu
660 665 670

Ile Ile Leu Arg Lys Glu Thr Phe Tyr Thr Leu Ser Cys Arg Asp Arg
675 680 685

Asn Glu Lys Ile Phe Arg Val Glu Asn Ser Asn Gly Met Lys Pro Phe
690 695 700

Arg Pro Asp Leu Phe Leu Glu Thr Ala Glu Glu Lys Glu Leu Glu Val
705 710 715 720

Tyr Leu Leu Val Lys Asn Cys Trp Glu Glu Asp Pro Glu Lys Arg Pro
725 730 735

Asp Phe Lys Lys Ile Glu Thr Thr Leu Ala Lys Ile Phe Gly Leu Phe
740 745 750

His Asp Gln Lys Asn Glu Ser Tyr Met Asp Thr Leu Ile Arg Arg Leu
755 760 765

Gln Leu Tyr Ser Arg Asn Leu Glu His Leu Val Glu Glu Arg Thr Gln
770 775 780

Leu Tyr Lys Ala Glu Arg Asp Arg Ala Asp Arg Leu Asn Phe Met Leu
785 790 795 800

Leu Pro Arg Leu Val Val Lys Ser Leu Lys Glu Lys Gly Phe Val Glu
805 810 815

Pro Glu Leu Tyr Glu Glu Val Thr Ile Tyr Phe Ser Asp Ile Val Gly
820 825 830

Phe Thr Thr Ile Cys Lys Tyr Ser Thr Pro Met Glu Val Val Asp Met
835 840 845

Leu Asn Asp Ile Tyr Lys Ser Phe Asp His Ile Val Asp His His Asp

850

855

860

Val Tyr Lys Val Glu Thr Ile Gly Asp Ala Tyr Met Val Ala Ser Gly
865 870 875 880

Leu Pro Lys Arg Asn Gly Asn Arg His Ala Ile Asp Ile Ala Lys Met
885 890 895

Ala Leu Glu Ile Leu Ser Phe Met Gly Thr Phe Glu Leu Glu His Leu
900 905 910

Pro Gly Leu Pro Ile Trp Ile Arg Ile Gly Val His Ser Gly Pro Cys
915 920 925

Ala Ala Gly Val Val Gly Ile Lys Met Pro Arg Tyr Cys Leu Phe Gly
930 935 940

Asp Thr Val Asn Thr Ala Ser Arg Met Glu Ser Thr Gly Leu Pro Leu
945 950 955 960

Arg Ile His Val Ser Gly Ser Thr Ile Ala Ile Leu Lys Arg Thr Glu
965 970 975

Cys Gln Phe Leu Tyr Glu Val Arg Gly Glu Thr Tyr Leu Lys Gly Arg
980 985 990

Gly Asn Glu Thr Thr Tyr Trp Leu Thr Gly Met Lys Asp Gln Lys Phe
995 1000 1005

Asn Leu Pro Thr Pro Pro Thr Val Glu Asn Gln Gln Arg Leu Gln
1010 1015 1020

Ala Glu Phe Ser Asp Met Ile Ala Asn Ser Leu Gln Lys Arg Gln
1025 1030 1035

Ala Ala Gly Ile Arg Ser Gln Lys Pro Arg Arg Val Ala Ser Tyr
1040 1045 1050

Lys Lys Gly Thr Leu Glu Tyr Leu Gln Leu Asn Thr Thr Asp Lys
1055 1060 1065

Glu Ser Thr Tyr Phe
1070

<210> 12
<211> 111
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln
 1 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn
 20 25 30

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala
 35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile
 50 55 60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala
 65 70 75 80

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg
 85 90 95

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Pro
 100 105 110

<210> 13

<211> 258

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln
 1 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn
 20 25 30

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala
 35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile
 50 55 60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala
 65 70 75 80

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg
 85 90 95

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Asn Ala

100

105

110

Gln Arg Met Gly Cys Val Leu Ile Gly Pro Ser Cys Thr Tyr Ser Thr
 115 120 125

Phe Gln Met Tyr Leu Asp Thr Glu Leu Ser Tyr Pro Met Ile Ser Ala
 130 135 140

Gly Ser Phe Gly Leu Ser Cys Asp Tyr Lys Glu Thr Leu Thr Arg Leu
 145 150 155 160

Met Ser Pro Ala Arg Lys Leu Met Tyr Phe Leu Val Asn Phe Trp Lys
 165 170 175

Thr Asn Asp Leu Pro Phe Lys Thr Tyr Ser Trp Ser Thr Ser Tyr Val
 180 185 190

Tyr Lys Asn Gly Thr Glu Thr Glu Asp Cys Phe Trp Tyr Leu Asn Ala
 195 200 205

Leu Glu Ala Ser Val Ser Tyr Phe Ser His Glu Leu Gly Phe Lys Val
 210 215 220

Val Leu Arg Gln Asp Lys Glu Phe Gln Asp Ile Leu Met Asp His Asn
 225 230 235 240

Arg Lys Ser Asn Val Thr Ser Thr Trp Arg Thr Met Ser Gln Pro Leu
 245 250 255

Thr Ile

<210> 14
 <211> 1070
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 14

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln
 1 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn
 20 25 30

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala
 35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile

50

55

60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala
65 70 75 80

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg
85 90 95

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Asn Ala
100 105 110

Gln Arg Met Gly Cys Val Leu Ile Gly Pro Ser Cys Thr Tyr Ser Thr
115 120 125

Phe Gln Met Tyr Leu Asp Thr Glu Leu Ser Tyr Pro Met Ile Ser Ala
130 135 140

Gly Ser Phe Gly Leu Ser Cys Asp Tyr Lys Glu Thr Leu Thr Arg Leu
145 150 155 160

Met Ser Pro Ala Arg Lys Leu Met Tyr Phe Leu Val Asn Phe Trp Lys
165 170 175

Thr Asn Asp Leu Pro Phe Lys Thr Tyr Ser Trp Ser Thr Ser Tyr Val
180 185 190

Tyr Lys Asn Gly Thr Glu Thr Glu Asp Cys Phe Trp Tyr Leu Asn Ala
195 200 205

Leu Glu Ala Ser Val Ser Tyr Phe Ser His Glu Leu Gly Phe Lys Val
210 215 220

Val Leu Arg Gln Asp Lys Glu Phe Gln Asp Ile Leu Met Asp His Asn
225 230 235 240

Arg Lys Ser Asn Val Ile Ile Met Cys Gly Gly Pro Glu Phe Leu Tyr
245 250 255

Lys Leu Lys Gly Asp Arg Ala Val Ala Glu Asp Ile Val Ile Ile Leu
260 265 270

Val Asp Leu Phe Asn Asp Gln Tyr Leu Glu Asp Asn Val Thr Ala Pro
275 280 285

Asp Tyr Met Lys Asn Val Leu Val Leu Thr Leu Ser Pro Gly Asn Ser
290 295 300

Leu Leu Asn Ser Ser Phe Ser Arg Asn Leu Ser Pro Thr Lys Arg Asp
305 310 315 320

Phe Ala Leu Ala Tyr Leu Asn Gly Ile Leu Leu Phe Gly His Met Leu
325 330 335

Lys Ile Phe Leu Glu Asn Gly Glu Asn Ile Thr Thr Pro Lys Phe Ala
340 345 350

His Ala Phe Arg Asn Leu Thr Phe Glu Gly Tyr Asp Gly Pro Val Thr
355 360 365

Leu Asp Asp Trp Gly Asp Val Asp Ser Thr Met Val Leu Leu Tyr Thr
370 375 380

Ser Val Asp Thr Lys Lys Tyr Lys Val Leu Leu Thr Tyr Asp Thr His
385 390 395 400

Val Asn Lys Thr Tyr Pro Val Asp Met Ser Pro Thr Phe Thr Trp Lys
405 410 415

Asn Ser Lys Leu Pro Asn Asp Ile Thr Gly Arg Gly Pro Gln Ile Leu
420 425 430

Met Ile Ala Val Phe Thr Leu Thr Gly Ala Val Val Leu Leu Leu Leu
435 440 445

Val Ala Leu Leu Met Leu Arg Lys Tyr Arg Lys Asp Tyr Glu Leu Arg
450 455 460

Gln Lys Lys Trp Ser His Ile Pro Pro Glu Asn Ile Phe Pro Leu Glu
465 470 475 480

Thr Asn Glu Thr Asn His Val Ser Leu Lys Ile Asp Asp Asp Lys Arg
485 490 495

Arg Asp Thr Ile Gln Arg Leu Arg Gln Cys Lys Tyr Asp Lys Lys Arg
500 505 510

Val Ile Leu Lys Asp Leu Lys His Asn Asp Gly Asn Phe Thr Glu Lys
515 520 525

Gln Lys Ile Glu Leu Asn Lys Ile Asp Tyr Tyr Asn Leu Thr Lys Phe
530 535 540

Tyr Gly Thr Val Lys Leu Asp Thr Met Ile Phe Gly Val Ile Glu Tyr
545 550 555 560

Cys Glu Arg Gly Ser Leu Arg Glu Val Leu Asn Asp Thr Ile Ser Tyr
565 570 575

Pro Asp Gly Thr Phe Met Asp Trp Glu Phe Lys Ile Ser Val Leu Tyr
580 585 590

Asp Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr Leu His Ser Ser Lys Thr Glu Val
595 600 605

His Gly Arg Leu Lys Ser Thr Asn Cys Val Val Asp Ser Arg Met Val
610 615 620

Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Cys Asn Ser Ile Leu Pro Pro Lys Lys
625 630 635 640

Asp Leu Trp Thr Ala Pro Glu His Leu Arg Gln Ala Asn Ile Ser Gln
645 650 655

Lys Gly Asp Val Tyr Ser Tyr Gly Ile Ile Ala Gln Glu Ile Ile Leu
660 665 670

Arg Lys Glu Thr Phe Tyr Thr Leu Ser Cys Arg Asp Arg Asn Glu Lys
675 680 685

Ile Phe Arg Val Glu Asn Ser Asn Gly Met Lys Pro Phe Arg Pro Asp
690 695 700

Leu Phe Leu Glu Thr Ala Glu Glu Lys Glu Leu Glu Val Tyr Leu Leu
705 710 715 720

Val Lys Asn Cys Trp Glu Glu Asp Pro Glu Lys Arg Pro Asp Phe Lys
725 730 735

Lys Ile Glu Thr Thr Leu Ala Lys Ile Phe Gly Leu Phe His Asp Gln
740 745 750

Lys Asn Glu Ser Tyr Met Asp Thr Leu Ile Arg Arg Leu Gln Leu Tyr
755 760 765

Ser Arg Asn Leu Glu His Leu Val Glu Glu Arg Thr Gln Leu Tyr Lys
770 775 780

Ala Glu Arg Asp Arg Ala Asp Arg Leu Asn Phe Met Leu Leu Pro Arg
785 790 795 800

Leu Val Val Lys Ser Leu Lys Glu Lys Gly Phe Val Glu Pro Glu Leu
805 810 815

Tyr Glu Glu Val Thr Ile Tyr Phe Ser Asp Ile Val Gly Phe Thr Thr
820 825 830

Ile Cys Lys Tyr Ser Thr Pro Met Glu Val Val Asp Met Leu Asn Asp
835 840 845

Ile Tyr Lys Ser Phe Asp His Ile Val Asp His His Asp Val Tyr Lys
850 855 860

Val Glu Thr Ile Gly Asp Ala Tyr Met Val Ala Ser Gly Leu Pro Lys
865 870 875 880

Arg Asn Gly Asn Arg His Ala Ile Asp Ile Ala Lys Met Ala Leu Glu
885 890 895

Ile Leu Ser Phe Met Gly Thr Phe Glu Leu Glu His Leu Pro Gly Leu
900 905 910

Pro Ile Trp Ile Arg Ile Gly Val His Ser Gly Pro Cys Ala Ala Gly
915 920 925

Val Val Gly Ile Lys Met Pro Arg Tyr Cys Leu Phe Gly Asp Thr Val
930 935 940

Asn Thr Ala Ser Arg Met Glu Ser Thr Gly Leu Pro Leu Arg Ile His
945 950 955 960

Val Ser Gly Ser Thr Ile Ala Ile Leu Lys Arg Thr Glu Cys Gln Phe
965 970 975

Tyr Glu Val Arg Gly Glu Thr Tyr Leu Lys Gly Arg Gly Asn Glu
980 985 990

Thr Thr Tyr Trp Leu Thr Gly Met Lys Asp Gln Lys Phe Asn Leu Pro
995 1000 1005

Thr Pro Pro Thr Val Glu Asn Gln Gln Arg Leu Gln Ala Glu Phe
1010 1015 1020

Ser Asp Met Ile Ala Asn Ser Leu Gln Lys Arg Gln Ala Ala Gly
1025 1030 1035

Ile Arg Ser Gln Lys Pro Arg Arg Val Ala Ser Tyr Lys Lys Gly
1040 1045 1050

Thr Leu Glu Tyr Leu Gln Leu Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ser Thr

1055

1060

1065

Tyr Phe
1070

<210> 15
<211> 93
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

Met Lys Leu Val Thr Ile Phe Leu Leu Val Thr Ile Ser Leu Cys Ser
1 5 10 15

Tyr Ser Ala Thr Ala Lys Leu Ile Asn Lys Cys Pro Leu Pro Val Asp
20 25 30

Lys Leu Ala Pro Leu Pro Leu Asp Asn Ile Leu Pro Phe Met Asp Pro
35 40 45

Leu Lys Leu Leu Leu Lys Thr Leu Gly Ile Ser Val Glu His Leu Val
50 55 60

Glu Gly Leu Arg Lys Cys Val Asn Glu Leu Gly Pro Glu Ala Ser Glu
65 70 75 80

Ala Val Lys Lys Leu Leu Glu Ala Leu Ser His Leu Val
85 90

<210> 16
<211> 261
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Ala Val Thr Ala Cys Gln Gly Leu Gly Phe Val Val Ser Leu Ile
1 5 10 15

Gly Ile Ala Gly Ile Ile Ala Ala Thr Cys Met Asp Gln Trp Ser Thr
20 25 30

Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln Gly
35 40 45

Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg
50 55 60

Gly Tyr Phe Thr Leu Leu Gly Leu Pro Ala Met Leu Gln Ala Val Arg
65 70 75 80

Ala Leu Met Ile Val Gly Ile Val Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Val
 85 90 95

Ser Ile Phe Ala Leu Lys Cys Ile Arg Ile Gly Ser Met Glu Asp Ser
 100 105 110

Ala Lys Ala Asn Met Thr Leu Thr Ser Gly Ile Met Phe Ile Val Ser
 115 120 125

Gly Leu Cys Ala Ile Ala Gly Val Ser Val Phe Ala Asn Met Leu Val
 130 135 140

Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly Met Gly Gly
 145 150 155 160

Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ala Leu Phe
 165 170 175

Val Gly Trp Val Ala Gly Gly Leu Thr Leu Ile Gly Gly Val Met Met
 180 185 190

Cys Ile Ala Cys Arg Gly Leu Ala Pro Glu Glu Thr Asn Tyr Lys Ala
 195 200 205

Val Ser Tyr His Ala Ser Gly His Ser Val Ala Tyr Lys Pro Gly Gly
 210 215 220

Phe Lys Ala Ser Thr Gly Phe Gly Ser Asn Thr Lys Asn Lys Lys Ile
 225 230 235 240

Tyr Asp Gly Gly Ala Arg Thr Glu Asp Glu Val Gln Ser Tyr Pro Ser
 245 250 255

Lys His Asp Tyr Val
 260

<210> 17
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 17

Asp Gln Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asn
 1 5 10

<210> 18
 <211> 11

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 18

Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln
 1 5 10

<210> 19
 <211> 47
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 19

Met Ala Val Thr Ala Cys Gln Gly Leu Gly Phe Val Val Ser Leu Ile
 1 5 10 15

Gly Ile Ala Gly Ile Ile Ala Ala Thr Cys Met Asp Gln Trp Ser Thr
 20 25 30

Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln
 35 40 45

<210> 20
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 20

agggtacatga gcatcagcct g

21

<210> 21
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 21

gcagcagttg gcatctgaga g

21

<210> 22
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 22

gcaatagaca ttgccaagat g

21

<210> 23
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 23

aacgctgttg attctccaca g

21

<210> 24
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 24
 ggatcctcct ttagttccca ggtgagtcag aac

33

<210> 25
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 25
 tgctctggag gctagcggtt c

21

<210> 26
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 26
 accaatcatg ttagcctcaa g

21

<210> 27
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 27
 agctatggga tcatgcaca g

21

<210> 28
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 28
 ctttgagct ggagcatott c

21

<210> 29
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 29
 ctttctagct ggagacatca g

21

<210> 30
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 30
 caccatggta ctgtcaacat c

21

<210> 31
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 31
 atgtcataca agacagagat c 21

<210> 32
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 32
 tctgccttgt acagctgtgt c 21

<210> 33
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 33
 tctgtggtat tcagctgcaa g 21

<210> 34
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 34
 tactcaggaa aatttcacct tg 22

<210> 35
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 35
 gaccacaaca ggaaaagcaa tgtgacc 27

<210> 36
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 36
 gatagaattg aacaagattg ac 22

<210> 37
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 37
 cagcctttgt agttactctg c 21

<210> 38
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 38
 tgtcacacca agtgtgatag c 21

<210> 39
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 39
 gggttcgtggt ttcactgatt gggattgc 28

<210> 40
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 40
 cggcctttgta gttggtttct tctgggtg 27

<210> 41
 <211> 3814
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 41
 ctattgaagc cacctgctca ggacaatgaa attcttcagt tacattctgg tttatcgccg 60
 atttctcttc gtggttttca ctgtgttggt tttactacct ctgccatcg tcctccacac 120
 caaggaagca gaatgtgcct acacactctt tgtggtcgcc acattttggc tcacagaagc 180
 attgcctctg tcggtaacag ctttgctacc tagtttaatg ttacccatgt ttgggatcat 240
 gccttctaag aagggtggcat ctgcttattt caaggatttt cacttactgc taattggagt 300
 tatctgttta gcaacatcca tagaaaaatg gaatttgcac aagagaattg ctctgaaaat 360
 ggtgatgatg gttggtgtaa atcctgcatg gctgacgctg gggttcatga gcagcactgc 420
 ctttttgtct atgtggctca gcaacacctc gacggctgcc atgggtgatgc ccattgcgga 480
 ggctgtagtg cagcagatca tcaatgcaga agcagaggtc gaggccactc agatgactta 540
 cttcaacgga tcaaccaacc acggactaga aattgatgaa agtggttaatg gacatgaaat 600
 aatgagagg aaagagaaaa caaaaccagt tccaggatac aataatgata cagggaaaat 660
 ttcaagcaag gtggagttgg aaaagaactc aggcattgaga accaaatata gaacaaagaa 720
 gggccacgtg acacgtaaac ttacgtgttt gtgcattgcc tactcttcta ccattggtgg 780
 actgacaaca atcactggta cctccaccaa cttgatcttt gcagagtatt tcaatacacg 840
 ctatcctgac tgtcgttgcc tcaactttgg atcatggttt acgttttctt tcccagctgc 900

ccttatcatt ctactcttat cctggatctg gcttcagtgg cttttcctag gattcaattt 960
 taaggagatg ttcaaagtgt gcaaaaccaa aacagtccaa caaaaagctt gtgctgaggt 1020
 gattaagcaa gaataccaaa agcttgggcc aataaggtat caagaaattg tgaccttggt 1080
 cctcttcatt ataatggctc tgctatgggt tagtcgagac cccggatttg ttcctgggtg 1140
 gtctgcactt ttttcagagt accctgggtt tgctacagat tcaactgttg ctttacttat 1200
 agggctgcta ttctttctta tcccagctaa gacactgact aaaactacac ctacaggaga 1260
 aattgttgct tttgattact ctccactgat tacttggaag gaattccagt cattcatgcc 1320
 ctgggatata gccattcttg ttggtggagg gtttgccctg gcagatgggt gtgaggagtc 1380
 cggattatct aagtggatag gaaataaatt atctcctctg ggttcattac cagcatgggt 1440
 aataattctg atatcttctt tgatgggtgac atctttaact gaggtagcca gcaatccagc 1500
 caccattaca ctctttctcc caatattatc tccattggcc gaagccattc atgtgaaccc 1560
 tctttatatt ctgatacctt ctactctgtg tacttcattt gcattcctcc taccagtagc 1620
 aaatccaccc aatgctattg tcttttcata tgggtcatctg aaagtcattg acatgggtta 1680
 agctggactt ggtgtcaaca ttggtgggtg tgctgtgggt atgcttggca tatgtacttg 1740
 gattgtaccc atgtttgacc tctacactta cccttcgtgg gctcctgcta tgagtaatga 1800
 gaccatgcca taataagcac aaaatttctg actatcttgc ggtaatttct ggaagacatt 1860
 aatgattgac tgtaaaatgt ggctctaaat aactaatgac acacatttaa atcagttatg 1920
 cgtagctgc tgcaattccc gtgaataccc gaaacctgct ggtataactc agagtccata 1980
 tttgttattg cagtgcact aaagagcatc tatgtgcctt catcaagaag cccatgtttt 2040
 gagattttgc tcatgaacca tctgcaactt gcttcacatc aagaataatt tataacttga 2100
 cttcaaaga gattagagca tttgtttcat cttacagttg gagttcaatg taacatttta 2160
 aatgcaattt attatttcag aaatttccca tgaaactaaa aatagaaaat aagatataca 2220
 agttaattcg gtacttggat aaatcatttc tgcattgttg ttccagagaa tttgctgaga 2280
 aatcaaagcc atgggtcatc ggtgatgaag agaaaagggt aatctaaatg atatgtgcat 2340
 ttcctcattt aaaaaatcca attggattat tottaataata tacatgtaat atgaaaattg 2400
 agattgaagc actaattcca aaattatggc tgaatatact aaataacaga aaagttacag 2460
 ataagaattt atttctactg aactctatag ttagtgtaat ataattcata tttttatgat 2520
 attggcacac tgagaaattc attttgtaga gctatggata aggcttgcta tgatttgcac 2580
 tattagtaca gtatagttag aaaggaaagc tgaacactat aaaactatta acatattttc 2640
 gtatatgagt aacaactttg cttaagtgtt tatcttagtt cagaaataca taatgtcata 2700
 tgttaaaaat aaagagatgt agaaatctaa atgaattatc actgtgtata cagacagaaa 2760

| | |
|--|------|
| aatcacataa ctctggtgtg ttaacattgc aatgaaaaaa tgaaaaaaag aaggaaaaaa | 2820 |
| gaataagaat gaaaactgct gacgtattac aaaacagaaa aataaatgat ttaaaatcaa | 2880 |
| atcaaaaaga aaaaaactaa acattttaac aaaaatggga taagaatagt cttctagaag | 2940 |
| tgaggatgcg taaaagaatg agtttccaat taccctgatg tgacaattac acattgtaga | 3000 |
| caggtagcaa aatatcacat acacccccaa aatatgtaca aatattatat atcaataaat | 3060 |
| aaatttttaa agagtaagtg ctattggcat tccaaaattc agctaaagga aaaatgatca | 3120 |
| aaaacaaagt aagggtgcaca gttagcaaaa gatgcagatg ttatatcaca gcaattctca | 3180 |
| tgctaaaaat acaacaaaag acaaagcaaa aaataaacct ttgctttttt tttttttttt | 3240 |
| ttttttttt gagacggagt ctcgctctgt cgcccaggct ggagtgcagt ggcgggatct | 3300 |
| cggctcactg caagctccgc ctcccagggt caccgccattc tcctgcctca gccaaacctt | 3360 |
| tgctattttt aatcttcgtt ggcactttcc agctgttact gaccttgtca tttttgttc | 3420 |
| aaataagatt atttacaac ttattcttga aactaaatat agtaaagagg gtttttaaaa | 3480 |
| taatatttaa catacgaatt attaattggc catgttcatt atttatctat gtttattaat | 3540 |
| gggccaatgc aaaaaatcat tttttcaaag aaaaatttgt ccatgtaaag cttaaattat | 3600 |
| aatattgctg ctttgtataa ctcttctatg tttattctat tcatttgctc ctttccttac | 3660 |
| catattttac acatgtattt ataatctgta gtatttatta catttctgct tttttctagt | 3720 |
| cattcaattt atcactgctg aattgcatca gatcatggat gcatttttat tatgaaaaaa | 3780 |
| taaaatgact tttcaaatta aaaaaaaaaa aaaa | 3814 |

<210> 42
 <211> 734
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

| | |
|--|-----|
| <400> 42 | |
| caggacaatg aaattcttca gttacattct gggttatcgc cgatttctct tcgtgggtttt | 60 |
| cactgtgttg gttttactac ctctgoccat cgtcctccac accaaggaag cagaatgtgc | 120 |
| ctacacactc tttgtggtcg ccacattttg gctcacagaa gcattgcctc tgtcggtaac | 180 |
| agctttgcta cctagttaa tgttacccat gtttgggatc atgccttcta agaagggtggc | 240 |
| atctgcttat ttcaaggatt ttcaattact gctaattgga gttatctgtt tagcaacatc | 300 |
| catagaaaaa tggaatttgc acaagagaat tgctctgaaa atggtgatga tggttggtgt | 360 |
| aaatcctgca tggctgacgc tgggggttcat gagcagcact gcctttttgt ctatgtggct | 420 |
| cagcaacacc tcgacggctg ccatggtgat gccattgctg gaggctgtag tgcagcagat | 480 |
| catcaatgca gaagcagagg tcgaggccac tcagatgact tacttcaacg gatcaaccaa | 540 |
| ccacggacta gaaattgatg aaagtgttaa tggacatgaa ataaatgaga ggaaagagaa | 600 |

aacaaaacca gttccaggat acaataatga tacagggaaa atttcaagca aggtggagtt 660
 ggaaaagact gtttaactac tgaaatgaag ctattctcct gactaaacat aactgaaaaa 720
 ccattcatta aatg 734

<210> 43
 <211> 539
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 43
 gccactcaga tgacttactt caacggatca accaaccacg gactagaaat tgatgaaagt 60
 gttaatggac atgaaataaa tgagaggaaa gagaaaacaa aaccagttcc aggatacaat 120
 aatgatacag ggaaaatttc aagcaagggtg gagttggaaa agcactggaa acttgcagtt 180
 caagatggct ccccatctcc ctctgtccat tctgtatcgc agctagctgc tcaaggaaaag 240
 agaaaagtgg aaggcatatg tacttagaaa ttattctatt actttcctgg atttaagagt 300
 attcagattt tctatttcaa catcaaacia ttgcattttt aaaaagaaat ttatgtgttc 360
 catgtcaaat ttagtagtgt gtggttgttt ataataatctt cttatatcta ctttaatttct 420
 atagtattta tagttatatg tctttatttc taacattttt cttgtgcttt taaagattat 480
 ttaaagatta tttttaaata atctttattt catttaaata aaatatttta tttaagtct 539

<210> 44
 <211> 556
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 44
 cacggactag aaattgatga aagtgttaat ggacatgaaa taaatgagag gaaagagaaa 60
 acaaaaaccag ttccaggata caataatgat acagggaaaaa tttcaagcaa ggtggagttg 120
 gaaaagaact caggcatgag aaccaaatat cgaacaaaga agggccacgt gacacgtaaa 180
 cttacgtgtt tgtgcattgc ctactcttct accattgggtg gactgacaac aatcactggg 240
 acctccacca acttgatctt tgcagagtat ttcaatacat tccatccaca cagaagagga 300
 gatcgtacaa ggcattgtaca ccaggaggca gaaatttgag gcatatcttg gaactctgtc 360
 taccacatcc tgaacatcac acagtttcca ctcttggtgc cttcaatcct gagaatgcat 420
 ccaggagcca ttctgtttta tgtcaattac taattagatc atgtcacgtt actaacttac 480
 tacgttccaa ttagtcctta ttgcatttgt aataaaatcc gcatactttc ggactggcta 540
 caaggttata catgat 556

<210> 45
 <211> 595
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 45

Met Lys Phe Phe Ser Tyr Ile Leu Val Tyr Arg Arg Phe Leu Phe Val
 1 5 10 15

Val Phe Thr Val Leu Val Leu Leu Pro Leu Pro Ile Val Leu His Thr
 20 25 30

Lys Glu Ala Glu Cys Ala Tyr Thr Leu Phe Val Val Ala Thr Phe Trp
 35 40 45

Leu Thr Glu Ala Leu Pro Leu Ser Val Thr Ala Leu Leu Pro Ser Leu
 50 55 60

Met Leu Pro Met Phe Gly Ile Met Pro Ser Lys Lys Val Ala Ser Ala
 65 70 75 80

Tyr Phe Lys Asp Phe His Leu Leu Leu Ile Gly Val Ile Cys Leu Ala
 85 90 95

Thr Ser Ile Glu Lys Trp Asn Leu His Lys Arg Ile Ala Leu Lys Met
 100 105 110

Val Met Met Val Gly Val Asn Pro Ala Trp Leu Thr Leu Gly Phe Met
 115 120 125

er Ser Thr Ala Phe Leu Ser Met Trp Leu Ser Asn Thr Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Met Val Met Pro Ile Ala Glu Ala Val Val Gln Gln Ile Ile Asn
 145 150 155 160

Ala Glu Ala Glu Val Glu Ala Thr Gln Met Thr Tyr Phe Asn Gly Ser
 165 170 175

Thr Asn His Gly Leu Glu Ile Asp Glu Ser Val Asn Gly His Glu Ile
 180 185 190

Asn Glu Arg Lys Glu Lys Thr Lys Pro Val Pro Gly Tyr Asn Asn Asp
 195 200 205

Thr Gly Lys Ile Ser Ser Lys Val Glu Leu Glu Lys Asn Ser Gly Met
 210 215 220

Arg Thr Lys Tyr Arg Thr Lys Lys Gly His Val Thr Arg Lys Leu Thr
 225 230 235 240

Cys Leu Cys Ile Ala Tyr Ser Ser Thr Ile Gly Gly Leu Thr Thr Ile
245 250 255

Thr Gly Thr Ser Thr Asn Leu Ile Phe Ala Glu Tyr Phe Asn Thr Arg
260 265 270

Tyr Pro Asp Cys Arg Cys Leu Asn Phe Gly Ser Trp Phe Thr Phe Ser
275 280 285

Phe Pro Ala Ala Leu Ile Ile Leu Leu Leu Ser Trp Ile Trp Leu Gln
290 295 300

Trp Leu Phe Leu Gly Phe Asn Phe Lys Glu Met Phe Lys Cys Gly Lys
305 310 315 320

Thr Lys Thr Val Gln Gln Lys Ala Cys Ala Glu Val Ile Lys Gln Glu
325 330 335

Tyr Gln Lys Leu Gly Pro Ile Arg Tyr Gln Glu Ile Val Thr Leu Val
340 345 350

Leu Phe Ile Ile Met Ala Leu Leu Trp Phe Ser Arg Asp Pro Gly Phe
355 360 365

Val Pro Gly Trp Ser Ala Leu Phe Ser Glu Tyr Pro Gly Phe Ala Thr
370 375 380

Asp Ser Thr Val Ala Leu Leu Ile Gly Leu Leu Phe Phe Leu Ile Pro
385 390 395 400

Ala Lys Thr Leu Thr Lys Thr Thr Pro Thr Gly Glu Ile Val Ala Phe
405 410 415

Asp Tyr Ser Pro Leu Ile Thr Trp Lys Glu Phe Gln Ser Phe Met Pro
420 425 430

Trp Asp Ile Ala Ile Leu Val Gly Gly Gly Phe Ala Leu Ala Asp Gly
435 440 445

Cys Glu Glu Ser Gly Leu Ser Lys Trp Ile Gly Asn Lys Leu Ser Pro
450 455 460

Leu Gly Ser Leu Pro Ala Trp Leu Ile Ile Leu Ile Ser Ser Leu Met
465 470 475 480

Val Thr Ser Leu Thr Glu Val Ala Ser Asn Pro Ala Thr Ile Thr Leu
485 490 495

Phe Leu Pro Ile Leu Ser Pro Leu Ala Glu Ala Ile His Val Asn Pro
500 505 510

Leu Tyr Ile Leu Ile Pro Ser Thr Leu Cys Thr Ser Phe Ala Phe Leu
515 520 525

Leu Pro Val Ala Asn Pro Pro Asn Ala Ile Val Phe Ser Tyr Gly His
530 535 540

Leu Lys Val Ile Asp Met Val Lys Ala Gly Leu Gly Val Asn Ile Val
545 550 555 560

Gly Val Ala Val Val Met Leu Gly Ile Cys Thr Trp Ile Val Pro Met
565 570 575

Phe Asp Leu Tyr Thr Tyr Pro Ser Trp Ala Pro Ala Met Ser Asn Glu
580 585 590

Thr Met Pro
595

<210> 46
<211> 224
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 46

Arg Thr Met Lys Phe Phe Ser Tyr Ile Leu Val Tyr Arg Arg Phe Leu
1 5 10 15

Phe Val Val Phe Thr Val Leu Val Leu Leu Pro Leu Pro Ile Val Leu
20 25 30

His Thr Lys Glu Ala Glu Cys Ala Tyr Thr Leu Phe Val Val Ala Thr
35 40 45

Phe Trp Leu Thr Glu Ala Leu Pro Leu Ser Val Thr Ala Leu Leu Pro
50 55 60

Ser Leu Met Leu Pro Met Phe Gly Ile Met Pro Ser Lys Lys Val Ala
65 70 75 80

Ser Ala Tyr Phe Lys Asp Phe His Leu Leu Leu Ile Gly Val Ile Cys
85 90 95

Leu Ala Thr Ser Ile Glu Lys Trp Asn Leu His Lys Arg Ile Ala Leu
100 105 110

Lys Met Val Met Met Val Gly Val Asn Pro Ala Trp Leu Thr Leu Gly
 115 120 125

Phe Met Ser Ser Thr Ala Phe Leu Ser Met Trp Leu Ser Asn Thr Ser
 130 135 140

Thr Ala Ala Met Val Met Pro Ile Ala Glu Ala Val Val Gln Gln Ile
 145 150 155 160

Ile Asn Ala Glu Ala Glu Val Glu Ala Thr Gln Met Thr Tyr Phe Asn
 165 170 175

Gly Ser Thr Asn His Gly Leu Glu Ile Asp Glu Ser Val Asn Gly His
 180 185 190

Glu Ile Asn Glu Arg Lys Glu Lys Thr Lys Pro Val Pro Gly Tyr Asn
 195 200 205

Asn Asp Thr Gly Lys Ile Ser Ser Lys Val Glu Leu Glu Lys Thr Val
 210 215 220

<210> 47
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 47

Ala Thr Gln Met Thr Tyr Phe Asn Gly Ser Thr Asn His Gly Leu Glu
 1 5 10 15

Ile Asp Glu Ser Val Asn Gly His Glu Ile Asn Glu Arg Lys Glu Lys
 20 25 30

Thr Lys Pro Val Pro Gly Tyr Asn Asn Asp Thr Gly Lys Ile Ser Ser
 35 40 45

Lys Val Glu Leu Glu Lys His Trp Lys Leu Ala Val Gln Asp Gly Ser
 50 55 60

Pro Ser Pro Ser Val His Ser Val Ser Gln Leu Ala Ala Gln Gly Lys
 65 70 75 80

Glu Lys Val Glu Gly Ile Cys Thr
 85

<210> 48
 <211> 112
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

His Gly Leu Glu Ile Asp Glu Ser Val Asn Gly His Glu Ile Asn Glu
1 5 10 15

Arg Lys Glu Lys Thr Lys Pro Val Pro Gly Tyr Asn Asn Asp Thr Gly
20 25 30

Lys Ile Ser Ser Lys Val Glu Leu Glu Lys Asn Ser Gly Met Arg Thr
35 40 45

Lys Tyr Arg Thr Lys Lys Gly His Val Thr Arg Lys Leu Thr Cys Leu
50 55 60

Cys Ile Ala Tyr Ser Ser Thr Ile Gly Gly Leu Thr Thr Ile Thr Gly
65 70 75 80

Thr Ser Thr Asn Leu Ile Phe Ala Glu Tyr Phe Asn Thr Phe His Pro
85 90 95

His Arg Arg Gly Asp Arg Thr Arg His Val His Gln Glu Ala Glu Ile
100 105 110

<210> 49

<211> 21,

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 49

ccagctttaa ccatgtcaat g

21

<210> 50

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 50

cagatggttg tgaggagtct g

21

<210> 51

<211> 3311

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 51

tgctaattgct tttggtacaa atggatgtgg aatataattg aatattttct tgtttaaggg 60

gagcatgaag aggtgttgag gttatgtcaa gcatctggca cagctgaagg cagatggaaa 120

tatttacaag tacgcaattt gagactaaga tattgttate attctcctat tgaagacaag 180

agcaatagta aaacacatca ggtcaggggg ttaaagacct gtgataaacc acttccgata 240

| | | | | | | |
|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------|
| agttggaaac | gtgtgtctat | attttcatat | ctgtatatat | ataatggtaa | agaaagacac | 300 |
| cttcgtaacc | cgcattttcc | aaagagagga | atcacaggga | gatgtacagc | aatggggcca | 360 |
| tttaagagtt | ctgtgttcat | cttgattctt | caccttctag | aagggggcct | gagtaattca | 420 |
| ctcattcagc | tgaacaacaa | tggctatgaa | ggcattgtcg | ttgcaatcga | ccccaatgtg | 480 |
| ccagaagatg | aaacactcat | tcaacaaata | aaggacatgg | tgacccaggc | atctctgtat | 540 |
| ctgtttgaag | ctacaggaaa | gcgattttat | ttcaaaaatg | ttgccatttt | gattcctgaa | 600 |
| acatggaaga | caaaggctga | ctatgtgaga | ccaaaacttg | agacctacaa | aatgctgat | 660 |
| gttctggttg | ctgagtctac | tcctccaggt | aatgatgaac | cctacactga | gcagatgggc | 720 |
| gaactgtggag | agaagggtga | aaggatccac | ctcactcctg | atttcattgc | aggaaaaaag | 780 |
| ttagctgaat | atggaccaca | aggtaaggca | tttgtccatg | agtgggctca | tctacgatgg | 840 |
| gagtatattg | acgagtacaa | taatgatgag | aaattctact | tatccaatgg | aagaatacaa | 900 |
| gcagtaagat | gttcagcagg | tattactggg | acaaatgtag | taaagaagtg | tcagggaggc | 960 |
| agctgttaca | ccaaaagatg | cacattcaat | aaagttacag | gactctatga | aaaaggatgt | 1020 |
| gagtttgttc | tccaatcccg | ccagacggag | aaggcttcta | taatgtttgc | acaacatggt | 1080 |
| gattctatag | ttgaattctg | tacagaacaa | aaccacaaca | aagaagctcc | aaacaagcaa | 1140 |
| aatcaaaaat | gcaatctccg | aagcacatgg | gaagtgatcc | gtgattctga | ggactttaag | 1200 |
| aaaaccactc | ctatgacaac | acagccacca | aatcccacct | tctcattgct | gcagattgga | 1260 |
| aaagaattg | tgtgtttagt | ccttgacaaa | tctggaagca | tggcgactgg | taaccgcctc | 1320 |
| aatcgactga | atcaagcagg | ccagcttttc | ctgctgcaga | cagttgagct | ggggtcctgg | 1380 |
| gttgggatgg | tgacatttga | cagtgtgtcc | catgtacaaa | gtgaactcat | acagataaac | 1440 |
| gtggcagtg | acagggacac | actcgccaaa | agattacctg | cagcagcttc | aggagggacg | 1500 |
| tccatctgca | gcgggcttcg | atcggcattt | actgtgatta | ggaagaaata | tccaactgat | 1560 |
| ggatctgaaa | ttgtgctgct | gacggatggg | gaagacaaca | ctataagtgg | gtgctttaac | 1620 |
| gaggtcaaac | aaagtgggtgc | catcatccac | acagtcgctt | tggggccctc | tgagctcaa | 1680 |
| gaactagagg | agctgtccaa | aatgacagga | ggtttacaga | catatgcttc | agatcaagtt | 1740 |
| cagaacaatg | gcctcattga | tgtttttggg | gccctttcat | caggaaatgg | agctgtctct | 1800 |
| cagcgctcca | tccagcttga | gagtaaggga | ttaaccctcc | agaacagcca | gtggatgaat | 1860 |
| ggcacagtga | tcgtggacag | caccgtggga | aaggacactt | tgtttcttat | cacctggaca | 1920 |
| acgcagcctc | cccaaaccct | tctctgggat | cccagtggac | agaagcaagg | tggctttgta | 1980 |
| gtggacaaaa | acacccaaaat | ggcctacctc | caaatcccag | gcattgctaa | ggttggcact | 2040 |
| tggaaataca | gtctgcaagc | aagctcacia | accttgaccc | tgactgtcac | gtcccgtgcg | 2100 |

| | |
|--|------|
| tccaatgcta ccctgcctcc aattacagtg acttccaaaa cgaacaagga caccagcaaa | 2160 |
| ttccccagcc ctctggtagt ttatgcaa attcgccaaag gagcctcccc aattctcagg | 2220 |
| gccagtgtca cagccctgat tgaatcagtg aatggaaaaa cagttacctt ggaactactg | 2280 |
| gataatggag caggtgctga tgctactaag gatgacgggtg tctactcaag gtatttcaca | 2340 |
| acttatgaca cgaatggtag atacagtgtg aaagtgcggg ctctgggagg agttaacgca | 2400 |
| gccagacgga .gagtatacc ccagcagagt ggagcactgt acatacctgg ctggattgag | 2460 |
| aatgatgaaa tacaatggaa tccaccaaga cctgaaatta ataaggatga tgttcaacac | 2520 |
| aagcaagtgt gtttcagcag aacatcctcg ggaggctcat ttgtggcttc tgatgtccca | 2580 |
| aatgctccca tacctgatct ctccacacct ggccaaatca ccgacctgaa ggcggaaatt | 2640 |
| cacgggggca gtctcattaa tctgacttgg acagctcctg gggatgatta tgaccatgga | 2700 |
| acagctcaca agtatatcat tcgaataagt acaagtattc ttgatctcag agacaagttc | 2760 |
| atgaatctc ttcaagtga tactactgct ctcatcccaa aggaagccaa ctctgaggaa | 2820 |
| gtctttttgt ttaaaccaga aaacattact ttgaaaatg gcacagatct tttcattgct | 2880 |
| attcaggctg ttgataaggt cgatctgaaa tcagaaatat ccaacattgc acgagtatct | 2940 |
| ttgtttattc ctccacagac tccgccagag acacctagtc ctgatgaaac gtctgctcct | 3000 |
| tgtcctaata ttcatatcaa cagcaccatt cctggcattc acattttaaa aattatgtgg | 3060 |
| aagtggatag gagaactgca gctgtcaata gcctagggct gaatttttgt cagataaata | 3120 |
| aaataaatca ttcatccttt ttttgattat aaaattttct aaaatgtatt ttagacttcc | 3180 |
| gtagggggc gatatactaa atgtatatag tacatttata ctaaagtat tcctgtaggg | 3240 |
| ggcgatatac taaatgtatt ttagacttcc tgtagggggc gataaaataa aatgctaaac | 3300 |
| aactgggtaa a | 3311 |

<210> 52
 <211> 3067
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

| | |
|--|-----|
| <400> 52 | |
| aattaaatta tgagaattaa aaagacaaca ttgagcagag atgaaaaagg aaggaggaa | 60 |
| aaggtggaaa agaaaagaag acaagaagcg agtagtggtc tctaacttgc tctttgaagg | 120 |
| atggtctcac aaagagaacc ccaacagaca tcatcgtggg aatcaaatac agaccagcaa | 180 |
| gtacaccggtg ttgtccttcg tccccaaaaa catttttgag cagctacacc ggtttgccaa | 240 |
| tctctatttt gtgggcattg cggttctgaa ttttatccct gtggtcaatg ctttccagcc | 300 |
| tgaggtgagc atgataccaa tctgtgttat cctggcagtc actgccatca aggacgcttg | 360 |
| ggaagacctc cggaggtaca aatcggataa agtcatcaat aaccgagagt gcctcatcta | 420 |

| | |
|--|------|
| cagcagaaaa gagcagacct atgtgcagaa gtgctggaag gatgtgcgtg tgggagactt | 480 |
| catccaaatg aaatgcaatg agattgtccc agcagacata ctccctcttt ttctctctga | 540 |
| ccccaatggg atatgccatc tggaaactgc cagcttggtat ggagagacaa acctcaagca | 600 |
| aagacgtgtc gtgaagggct tctcacagca ggaggtacag ttcgaaccag agcttttcca | 660 |
| caataccatc gtgtgtgaga aacccaacaa ccacctcaac aaatttaagg gttatatgga | 720 |
| gcctcctgac cagaccagga ctggctttgg ctgtgagagt cttctgcttc gaggctgcac | 780 |
| catcagaaac accgagatgg ctgttggcat tgtcatctat gcaggccatg agacgaaagc | 840 |
| catgctgaac aacagtggcc cccggtacaa acgcagcaag attgagcggc gcatgaatat | 900 |
| agacatcttc ttctgcattg ggatccctcat cctcatgtgc cttattggag ctgtaggcca | 960 |
| cagcatctgg aatgggacct ttgaagaaca cctcccttc gatgtgccag atgccaatgg | 1020 |
| cagcttcctt cccagtggcc ttgggggctt ctacatgttc ctcaaatga tcatcctgct | 1080 |
| cagggtgctg atccccatct ctttgtatgt ctccattgag ctggtgaagc tcgggcaagt | 1140 |
| gttcttcttg agcaatgacc ttgacctgta tgatgaagag accgatttat ccattcaatg | 1200 |
| tcgagccctc aacatcgag aggacttggg ccagatccag tacatcttct ccgataagac | 1260 |
| ggggaccctg acagagaaca agatgggtgtt ccgacgttgc accatcatgg gcagcgagta | 1320 |
| ttctcaccaa gaaaatggta tagaagctcc caagggtcc atccctcttt ctaaaaggaa | 1380 |
| ataccctgct ctctaagaa acgaggagat aaaagacatt ctccctggctc tcttagaggc | 1440 |
| tgtgtggcat ttccacaagt tgcttctgt atccctgtgg tcttcttgt cacagatcag | 1500 |
| ggctgttcca attacttga aactttcatt tgtttacaaa ggtagaagt tatcccatat | 1560 |
| gtggttcccc ttcagctgat ctttgtctgg tgccagacaa agcactttat gagacgagtt | 1620 |
| ttttatctgt cagcaatgga ttggagacat ttcccaattg tgtgccagtc acacaaccaa | 1680 |
| gcttaggaa tttctcaggc caccttacct gacatgtcag ggcaggtctg tgtctagggtg | 1740 |
| catggtcaga tttaatacat ccagaagatg tcttctattc taacagatct cttagcttgt | 1800 |
| cactgaggca aagttttgat ttaggagata gggctataaa atgcctggac tgttaccttg | 1860 |
| catggactga atatgactca taaaactgat ctgattcctt cagccatcat ctgcccact | 1920 |
| tggttcccct cccaccccc ccacaacaca cacacacact ttctaagaaa agaaaagaaa | 1980 |
| ttcttttttt tcaatacttt aagttctggg atacatgtgc agaatgtgca ggtttgttac | 2040 |
| ataggtatac atgtgtcatg gtggtttgca gcaccacca accatcatc taccttaggt | 2100 |
| atttctcta atgctatccc tcccctagcc cccaaccccc cgatgggctc cagtgtgtga | 2160 |
| tgttcccctc catgtccatg tgttctcatt gttcaattcc cacttatgag tgagaacatg | 2220 |
| cagtatttgg ttttctgttc ttgtgttagt ttgctgatgg tttctgttc atccgtgtcc | 2280 |
| ctgcaaagga catgaactca tcctttttta tggctgcata atattccatg gtgtatatgt | 2340 |

| | | | | | | |
|-------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|------|
| gccacatttt | ctttatccag | tctatcgctg | atgggcaactg | gggttggttc | caagtctttg | 2400 |
| ctattgtgaa | cagtgcgtga | ataaacttac | atgtgcatgt | gtcttttagta | gaatgattta | 2460 |
| taatcctttg | ggtatatacc | cagtaatggg | attgctgggc | aaatgggtatt | tctggttcta | 2520 |
| gaccccttgag | gaatctttgt | cttcacacat | gggtgaacta | atttgtactc | ccaccaacag | 2580 |
| tgtaaaaagta | ttcctgtttc | tctacatcct | cttcagcatc | tggtgtgtcc | tgacatttta | 2640 |
| atgatcacta | ttctcactgg | cgtgagatgt | tatctcattg | tggttttgat | ttgcatttct | 2700 |
| ctaataacca | gtaatgatga | gctttttttc | atatgtttgt | tggtgcata | aatgtcttct | 2760 |
| tttgagaagt | gtctgttcat | atccttcacc | cattttttga | agaaaacaaa | ctcttaagag | 2820 |
| agcagtattc | attcttttga | gtgtgagggg | tgagagaaaga | gaaagatgga | gagagtatta | 2880 |
| taagcagctg | tatccccttt | gccatggtga | tagcagacca | ttcacatggg | agcttctggt | 2940 |
| ctctttgtaa | taataataag | agccacatta | ccagtactta | gagtatgcta | gttattttta | 3000 |
| cacattgtat | cattaaatct | tcaaaacatc | cctatgagtt | agaaaccta | aaaaaaaaaa | 3060 |
| aaaaaaa | | | | | | 3067 |

<210> 53
 <211> 2778
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

| | | | | | | |
|-------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-----|
| <400> 53 | | | | | | |
| ctcattttga | tgtctagaat | caggggatcc | aggatcatca | ccaaggatcat | tttcccagggt | 60 |
| atggaggggt | ctttctgctt | ctttcttgct | atgcacagct | gctgaggaag | gggctgggag | 120 |
| ttaaagacagt | gaaatgggga | ggaggagtcc | attcaaaccg | agaaacaaag | tgtttggttt | 180 |
| ttcttaccct | tggtgtagaa | gctaccaacc | ttttccaaga | aagagggcct | ggcccccttc | 240 |
| ctgggtctgg | ctgggtgcct | gctgtgcctc | tctggcctcc | cctccgaagg | gcaccattcc | 300 |
| ctcgggtgag | tactaccggc | ctgcaccgtc | ttccagtggg | gacagcctga | gaagagagtc | 360 |
| tggggcctta | cttcagtacc | ttccttcact | ggcctcacc | tgtgcaaata | atgccacacg | 420 |
| ctgcagcctc | cttttcccta | tctataaaat | aaaaatgacc | ctgctctatc | tactgggct | 480 |
| ggcaagaaca | cactgttggt | gccttgaga | cagatgtgct | gaggctgtag | aaagtgcctt | 540 |
| ttatttggtt | gggagcttgt | gcataaatgc | gagaggggct | gcacatctga | cggactagag | 600 |
| gtgactcatg | gctgaaccgg | aacaggacat | cggggagaag | ccagcagcca | tgctgaactc | 660 |
| tccacagggc | cctgtgaaaa | gctcttcacc | tcctctgccc | tctggatcta | gtgaagccta | 720 |
| ttcatccttc | agatgtcagc | tcaaataatc | aaccttcctg | gaggcctccc | ttgaccctta | 780 |
| acatgccttc | aaagtactgt | gtatttcaca | ttcatcatgc | cccgacaact | gtgatttccc | 840 |
| atttattaat | atctgtctct | tctgtggccc | tgcaaactcc | aggagcacag | agacatcttt | 900 |

| | |
|---|------|
| gggatttttg aacatgattt ccccagggct tagcccagtg cctggtgcaa agcaggcctt | 960 |
| caacatgttc agtggatatt gtaagaaaga aagaaataca caaaaggcct ggcatatgca | 1020 |
| aagcactcta aatattcact cctttccctt cctctgggt gagaaaattt ctccttataa | 1080 |
| agacaccctc ctaactgtat ctctgctaga gaactgaaga cataaagcac tctgtgccaa | 1140 |
| aaatatttaa gtaaaaactt gagctaagca cagagattat aaatatttct tccccagatt | 1200 |
| acgcaccatt taaaaaact gtctcagctc cttttcatga tttgggtggg gattaaagaa | 1260 |
| aattactctt caagactgaa agtcattact gcccttttcc tgacttgccct tttcccttga | 1320 |
| gaaggggagg ataagctgca gggcaggaag tggaagtggg gcacccctgt cctttgtctg | 1380 |
| gcagacagcc aactggtcag gtactgctcc ttctcaactc tttcctgatt cccagggtgaa | 1440 |
| tataaacaag aaggcacaaa tccacacttg ccaacaacgg acccaagtga taacaagaaa | 1500 |
| ccagtgaca cctgtctagg tgaagactca gccctatgt gaccagggtg caaagccaaa | 1560 |
| ctgaccatct gctttccatt tggactttta gttcatactg tatcttctca ggacagttaa | 1620 |
| gttggaaatac aatgccactg tcctgaaaga tggtagaatt atcctatttc tggaggagt | 1680 |
| ggggtgggtg gtaggaatct caagagcgat ttgctcctct gcacaatagc ttctttaagg | 1740 |
| acaccagggc ccccagggct atacatttcc ctgaagcttt ccagataagc aacaaggat | 1800 |
| gagcacctgc tatgtattgc ccaaggggtga tgtgtttaaa tatccattgc atattttaaa | 1860 |
| tccttggctg gcttaaagct gcaagctttc tgtcttcagt ggatataatg ggggcataca | 1920 |
| cccagagct tgccaacac tccaagaaaa gaaccctcag ctaatgcaaa gtgtgtatgt | 1980 |
| gcccataaaa gctccatgtc tacttaacat tcagttttta ggattattta tgctgtaata | 2040 |
| atagatatga aaatctctga caggatattt gtttccttta caaactgtat ttgaatttat | 2100 |
| gtgattta gagcttgtgt ttaaagtcag aattcagaac cccaagaaa atgacttcat | 2160 |
| tgaattgaa ctgaagagac aagaactgag ttacccaaa ctactaaacg tgagttgctg | 2220 |
| tgaactgggg attaaaccag aacgagtgga gaagatcaga aagctaccaa acacactgct | 2280 |
| cagaaaggac aaagacattc gaagactgag ggactttcag gaagtggaa tcattttaat | 2340 |
| gaaaaatgga agctccagat tgacagaata tgtgccatct ctgacagaaa ggccctgcta | 2400 |
| tgatagcaaa gctgcaaaaa tgacttatta aatactccca ggaatggccg cgcattggtg | 2460 |
| ctcaccctct gtaatcccag cactttggga agccaagggt ggcggtatcac ctgagggtcag | 2520 |
| gagttctaga ccagcctggc caacatatag tgaaaccag tctctactaa aaaaaataca | 2580 |
| aaaattagct aggtgtgggt gcgcacacct gtagtagtcc cagctacatg ggaagctgag | 2640 |
| gcaggagaat cacctgaacc caggaggcag aggttgagct gagctgagat tgcgccactg | 2700 |
| cactccagcc tggcgacaga gcaagactct gtctctcaaa ataaataaat aaataaataa | 2760 |

ataaataaat aaataatc

2778

<210> 54
 <211> 1646
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 54
 gcccgaggaga ggagaggagc gggccgagga ctccagcgtg cccaggtctg gcatcctgca 60
 cttgctgccc tctgacacct gggaagatgg ccggcccgtg gaccttcacc cttctctgtg 120
 gtttgctggc agccaccttg atccaagcca ccctcagtc cactgcagtt ctcatcctcg 180
 gcccaaaagt catcaaagaa aagctgacac aggagctgaa ggaccacaac gccaccagca 240
 ccctgcagca gctgccgctg ctcaagtcca tgccgggaaaa gccagccgga ggcattccctg 300
 tgctgggcag cctggtgaac accgtcctga agcacatcat ctggctgaag gtcattcacag 360
 taacatcct ccagctgcag gtgaagccct cggccaatga ccaggagctg ctagtcaaga 420
 tccccctgga catggtggct ggattcaaca cggccctggc caagaccatc gtggagttcc 480
 acatgacgac tgaggcccaa gccaccatcc gcatggacac cagtgcaggt ggccccaccc 540
 gcctggtcct cagtgactgt gccaccagcc atgggagcct gcgcatcaa ctgctgcata 600
 agctctcctt cctggtgaac gccttagcta agcaggtcat gaacctccta gtgcatccc 660
 tgcccaatct agtgaaaaac cagctgtgtc ccgtgatoga ggcttccttc aatggcatgt 720
 atgcagacct cctgcagctg gtgaagggtg ccatttcctt cagcattgac cgtctggagt 780
 tgaccttct gtatcctgcc atcaagggtg acaccattca gctctacctg ggggccaagt 840
 tgttggactc acagggaag gtgaccaagt ggttcaataa ctctgcagct tccctgacaa 900
 tgccaccct ggacaacatc ccgttcagcc tcatogtgag tcaggacgtg gtgaaagctg 960
 agtggctgc tgtgctctct ccagaagaat tcatggctct gttggactct gtgcttcctg 1020
 agagtgccca tcggctgaag tcaagcatcg ggctgatcaa tgaaaaggct gcagataagc 1080
 tgggatctac ccagatcgtg aagatcctaa ctccaggacac tcccaggttt tttatagacc 1140
 aaggccatgc caaggaggcc caactgatcg tgctggaagt gttccctcc agtgaagccc 1200
 tccgcccctt gttcaccctg ggcacatgaag ccagctcgga agctcagttt tacaccaaag 1260
 gtgaccaact tatactcaac ttgaataaca tcagctctga tcggatccag ctgatgaact 1320
 ctgggattgg ctggttccaa cctgatgttc tgaaaaacat catcactgag atcatccact 1380
 ccatcctgct gccgaaccag aatggcaaata taagatctgg ggtcccagtg tcattggtga 1440
 aggccttggg attcgaggca gctgagtcct cactgaccaa ggatgccctt gtgcttactc 1500
 cagcctcctt gtggaaaccc agctctcctg tctcccagtg aagacttgga tggcagccat 1560
 cagggaaggc tgggtcccag ctgggagtat ggggtgtgagc tctatagacc atccctctct 1620

gcaatcaata aacacttgcc tgtgat

1646

<210> 55
 <211> 1049
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 55
 ggagtggggg agagagagga gaccaggaca gctgctgaga cctctaagaa gtccagatac 60
 taagagcaaa gatgtttcaa actggggggc tcattgtctt ctacgggctg ttagcccaga 120
 ccatggccca gtttgagggc ctgccgtgc ccctggacca gaccctgcc ttgaatgtga 180
 atccagccct gcccttgagt cccacaggtc ttgcaggaag cttgacaaat gccctcagca 240
 tggcctgct gtctgggggc ctggtgggca ttctggaaaa cttccgctc ctggacatcc 300
 tgaagcctgg aggaggtact tctggtggcc tccttggggg actgcttga aaagtgacgt 360
 agtgattcc tggcctgaac aacatcattg acataaaggt cactgacccc cagctgctgg 420
 aacttggcct tgtgcagagc cctgatggcc accgtctcta tgtcaccatc cctctcggca 480
 taaagctcca agtgaatacg cccctggtcg gtgcaagtct gttgaggctg gctgtgaagc 540
 tggacatcac tgcagaaatc ttagctgtga gagataagca ggagaggatc cacctggtcc 600
 ttggtgactg caccattcc cctggaagcc tgcaaatttc tctgcttgat ggacttggcc 660
 ccctcccat tcaaggtctt ctggacagcc tcacagggat cttgaataaa gtctgcctg 720
 agttggttca gggcaacgtg tgccctctgg tcaatgaggt tctcagaggc ttggacatca 780
 cctggtgca tgacattgtt aacatgctga tccacggact acagtttgtc atcaaggtct 840
 aagccttcca ggaaggggct ggcctctgct gagctgcttc ccagtgtca cagatggctg 900
 gcccatgtgc tggaagatga cacagttgcc ttctctcga ggaacctgcc ccctctcctt 960
 ccaccagg cgtgtgtaac atcccatgtg cctcacctaa taaaatggct cttcttctgc 1020
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1049

<210> 56
 <211> 4815
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 56
 gagcagagcc ctttcacaca cctcaggaac acctttcggc tgcccgctcc ccagacacac 60
 ctgcagccct gccagccgg ctttgctcac ccaactgcttg taaatgcccc agatatgagc 120
 cagcccaggc cccgctacgt ggtagacaga gccgcatact cccttaccct cttcgacgat 180
 gagtttgaga agaaggaccg gacataccca gtgggagaga aacttcgcaa tgccttcaga 240
 tgttctcag ccaagatcaa agctgtggtg ttggggctgc tgccgtgtgt ctccctggctc 300
 cccaagtaca agattaaaga ctacatcatt cctgacctgc tcggtggact cagcggggga 360

| | | | | | | |
|-------------|------------|-------------|-------------|------------|------------|------|
| tccatccagg | tcccacaagg | catggcattt | gctctgctgg | ccaaccttcc | tgcagtcaat | 420 |
| ggcctctact | cctccttctt | ccccctcctg | acctaacttct | tcctgggggg | tggtcaccag | 480 |
| atgggtgccag | gtacctttgc | cgttatcagc | atcctgggtg | gtaacatctg | tctgcagctg | 540 |
| gccccagagt | cgaaattcca | ggtcttcaac | aatgccacca | atgagagcta | tgtggacaca | 600 |
| gcagccatgg | aggctgagag | gctgcacgtg | tcagctacgc | tagcctgcct | caccgccatc | 660 |
| atccagatgg | gtctgggctt | catgcagttt | ggctttgtgg | ccatctacct | ctccgagtcc | 720 |
| ttcatccggg | gcttcatgac | ggccgcgggc | ctgcagatcc | tgatttcggt | gctcaagtac | 780 |
| atcttcggac | tgaccatccc | ctcctacaca | ggcccagggt | ccatcgtctt | taccttcatt | 840 |
| gacatttgca | aaaacctccc | ccacaccaac | atgcctcgc | tcattctcgc | tctcatcagc | 900 |
| gggtgccttcc | tggtgctggt | gaaggagctc | aatgctcgtc | acatgcacaa | gattcgcttc | 960 |
| ccatcccta | cagagatgat | tgtggtggtg | gtggcaacag | ctatctccgg | gggctgtaag | 1020 |
| atgccccaaa | agtatcacat | gcagatcgtg | ggagaaatcc | aacgcggggt | ccccaccccg | 1080 |
| gtgtcgcctg | tggtctcaca | gtggaaggac | atgataggca | cagccttctc | cctagccatc | 1140 |
| gtgagctacg | tcatcaacct | ggctatgggc | cggacctg | ccaacaagca | cggctacgac | 1200 |
| gtggattcga | accaggagat | gatcgtctc | ggctgcagca | acttctttgg | ctccttcttt | 1260 |
| aaaattcatg | tcatttgctg | tgcgctttct | gtcactctgg | ctgtggatgg | agctggagga | 1320 |
| aaatcccagg | tggccagcct | gtgtgtgtct | ctgggtggtga | tgatcaccat | gctggtcctg | 1380 |
| gggatctatc | tgtatcctct | ccctaagttc | gtgctaggag | ccctgatcgc | tgtcaatctc | 1440 |
| aagaactccc | tcaagcaact | caccgacccc | tactacctgt | ggaggaagag | caagctggac | 1500 |
| tgttgcatct | gggtagttag | cttcctctcc | tccttcttcc | tcagcctgcc | ctatggtgtg | 1560 |
| gagtggtg | tcgccttctc | cgtcctggtc | gtggtcttcc | agactcagtt | tcgaaatggc | 1620 |
| tatgcaactg | cccaggtcat | ggacactgac | atztatgtga | atcccaagac | ctataatagg | 1680 |
| gcccaggata | tccaggggat | taaaatcctc | acgtactgct | cccctctcta | ctttgccaac | 1740 |
| tcagagatct | tcaggcaaaa | ggtcatcgcc | aagacaggca | tggaccccca | gaaagtatta | 1800 |
| ctagccaagc | aaaaatacct | caagaagcag | gagaagcgga | gaatgaggcc | cacacaacag | 1860 |
| aggaggtctc | tattcatgaa | aaccaagact | gtctccctgc | aggagctgca | gcaggacttt | 1920 |
| gagaatgcgc | ccccaccga | ccccacaac | aaccagaccc | cggctaacgg | caccagcgtg | 1980 |
| tcctatatca | ccttcagccc | tgacagctcc | tcacctgccc | agagttagcc | accagcctcc | 2040 |
| gctgaggccc | ccggcgagcc | cagtgcacatg | ctggccagcg | tcccaccctt | cgtcaccttc | 2100 |
| cacacctca | tcctggacat | gagtggagtc | agcttcgtgg | acttgatggg | catcaaggcc | 2160 |
| ctggccaagc | tgagctccac | ctatgggaag | atcggcgtga | aggtcttctt | ggtgaacatc | 2220 |

| | | | | | | |
|-------------|-------------|------------|------------|-------------|------------|------|
| catgcccagg | tgtacaatga | cattagccat | ggaggcgtct | ttgaggatgg | gagtctagaa | 2280 |
| tgcaagcacg | tctttcccag | catacatgac | gcagtcctct | ttgcccaggc | aaatgctaga | 2340 |
| gacgtgaccc | caggacacaa | cttccaaggg | gctccagggg | atgctgagct | ctccttgtag | 2400 |
| gactcagagg | aggacattcg | gagctactgg | gacttagagc | aggagatgtt | cgggagcatg | 2460 |
| tttcacgcag | agaccctgac | cgccctgtga | gggctcagcc | agtcctcatg | ctgcctacag | 2520 |
| agtgcctggc | acttgggact | tccataaagg | atgagcctgg | ggtcacaggg | ggtgtcgggc | 2580 |
| ggaggaaagt | gcatcccca | gagcttgggt | tcctctctcc | tctccccctc | tctcctccct | 2640 |
| tccttcctc | cccgcctctc | cagagagagc | ctctcagcag | caggggggtg | ctacccttac | 2700 |
| gggagtgaga | gtctgggtgag | cccactcttc | accgcgcagg | ccctggccgc | aatggacaag | 2760 |
| cctcctgctc | actccacccc | accacatct | gccctgtcct | tggcagctga | aggacacctt | 2820 |
| gacttcagc | ttttacgagt | gagccaaaaa | cagaaggaca | agtacaactg | tgctggcctg | 2880 |
| gtgtacaagc | ttcaaaaagt | gtccagagc | ccgcacggct | cgggtgtcaga | tggtgtcagg | 2940 |
| ctgtcacgga | catagggata | aacttggtta | ggactctggc | ttgccttccc | cagctgcctc | 3000 |
| aactctgtct | ctggcagctc | tgcacccagg | gacatgtgc | tctccacacc | caggagtcta | 3060 |
| ggccttggtta | actatgcgcc | ccccctccat | catccccaag | gctgcccana | ccaccactgc | 3120 |
| tgtagcaag | cacatcagac | tctagcctgg | acagtggcca | ggaccgtcga | gaccaccaga | 3180 |
| gctacctccc | cggggacagc | ccactaaggt | tctgcctcag | cctcctgaaa | catcactgcc | 3240 |
| ctcagaggct | gtcccttccc | cctggaggct | ggctagaaac | cccaaagagg | gggatgggta | 3300 |
| gctggcagaa | tcctctggca | tcctagtaat | agataccagt | tattctgcac | aaaacttttg | 3360 |
| ggaattcctc | tttgcaccca | gagactcaga | ggggaagagg | gtgctagtag | caacacaggg | 3420 |
| aaaacggatg | ggacctgggc | ccagacagtc | ccccttgacc | ccagggccca | tcagggaat | 3480 |
| cctcccttt | ggtaaactctg | ccttatcctt | ctttacctgg | caaagagcca | atcatgttaa | 3540 |
| ctcttcctta | tcagcctgtg | gccagagac | acaatggggg | ccttctgtag | gcaaagggtg | 3600 |
| aagtcctcca | gggatccgct | acatcccta | actgcatgca | gatgtggaaa | ggggctgac | 3660 |
| cagattgggt | cttctgcac | aggaagactc | tttaacaccc | ttaggacctc | aggccatctt | 3720 |
| ctcctatgaa | gatgaaaata | gggtttaagt | ttccatatg | tacaaggagg | tattgagagg | 3780 |
| aaccctactg | ttgacttgaa | aataaatagg | ttccatgtgt | aagtgttttg | taaaatttca | 3840 |
| gtggaaatgc | acagaaaatc | ttctggcctc | tcatactgc | ttttctcaag | cttcttcagc | 3900 |
| ttaacaaccc | cttccctaac | aggttgggct | ggcccagcct | aggaaaacat | ccccatttct | 3960 |
| aacttcagcc | agacctgcgt | tgtgtgtctg | tgtgttgagt | gagctgggtca | gctaacaagt | 4020 |
| cttcttagag | ttaaaggagg | gggtgctggc | caagagccaa | cacattcttg | gcccaggagc | 4080 |
| attgcttttc | tgtgaattca | ttatgccatc | tggtgcca | tggaactcaa | aacttggaag | 4140 |

gcgaaggaca atgttatctg ggattcaccg tgcccagcac ccgaagtgcc aaattccagg 4200
aggacaagag ccttagccaa tgacaactca ctctccccta ctccacctcc ttccaagtcc 4260
agctcaggcc caggaggtgg gagaaggta cagagcctca ggaatttcca agtcagagtc 4320
ccctttgaac caagtatcta gatccccctga ggacttgatg aagtgatcct taacccccaa 4380
gtaatcatta acccccagac cagcctcaga actgaaggag attgttgacc cagtgacctg 4440
gagttgaggg tcagggagag atctgccaca tgtctgaggg ttgcagagcc cgctgtggag 4500
gtaagattgg aaacacatga ggcagaggga agacattgaa gaaaacatct ctgctggaat 4560
atttgaaaaa gaacactctt ctggacctgg ttgaagcagg aaagatggag gcaaagtagt 4620
aaataatcc agaatttcaa tgcttttgaa tgttcttagt gatactgacc tgtgataata 4680
taattcccag ggaggactgg gaaccttatt tcttgagata tttgcataat ttattttaatt 4740
aagcctcat tctccttttg ttcatthttg taataaactg gatttgaatt gtgaacaaaa 4800
aaaaaaaaaaaa aaaaa 4815

<210> 57
<211> 2572
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 57
aatgctctaa gacctctcag cacgggcgga agaaactccc ggagagctca cccaaaaaac 60
aaggagatcc catctagatt tcttcttgct ttgactcac agctggaagt tagaaaagcc 120
tcgatttcat ctttgagag gccaaatggg cttagcctca gtctctgtct ctaaatatcc 180
caccataaaa cagctgagtt atttatgaat tagaggctat agctcacatt ttcaatcctc 240
tatttctttt tttaaatata actttctact ctgatgagag aatgtgggtt taatctctct 300
tcacatttt gatgatttag acagactccc cctcttcctc ctagtcaata aaccattga 360
tgatctatth cccagcttat cccaagaaa acttttgaaa ggaaagagta gacccaaaga 420
tgthattttc tgctgtttga atthtgctc cccaccccca acttggttag taataaacac 480
ttactgaaga agaagcaata agagaaagat atthgtaatc tctccagccc atgatctcg 540
ttttcttaca ctgtgatctt aaaagttacc aaaccaaagt catthtcagt ttgaggcaac 600
caaacctthc tactgctgtt gacatcttct tattacagca acaccattct aggagthtcc 660
tgagctctcc actggagtcc tctthctgtc gcgggtcaga aatgtccct agatgaatga 720
gaaaattatt tthtttaatt taagtcctaa atatagthaa aataaataat gthtttagtaa 780
aatgatacac tatctctgtg aaatagctc accctacat gtggatagaa ggaaatgaaa 840
aaataattgc thtgacattg tctatatggg actthgtaaa gtcattgctta agtacaaatt 900
ccatgaaaag ctactgatc ctaattctth cctthtgagg tctctatggc tctgattgta 960

```

catgatagta agtgtaagcc atgtaaaaag taaataatgt ctgggcacag tggctcacgc 1020
ctgtaatcct agcacttttg gaggctgagg aggaaggatc acttgagccc agaagttcga 1080
gactagcctg ggcaacatgg agaagccctg tctctacaaa atacagagag aaaaaatcag 1140
ccagtcatgg tggcatacac ctgtagtccc agcattccgg gaggctgagg tgggaggatc 1200
acttgagccc agggagggttg gggctgcagt gagccatgat cacaccactg cactccagcc 1260
aggtgacata gcgagatcct gtctaaaaaa ataaaaaata aataatggaa cacagcaagt 1320
cctaggaagt aggttaaaac taattcttta aaaaaaaaaa aaagttgagc ctgaattaaa 1380
tgtaatgttt ccaagtgaca ggtatccaca tttgcatggt tacaagccac tgccagttgg 1440
cagtagcact ttcttggcac tgtggtcggt tttgttttgt tttgctttgt ttagagacgg 1500
ggtctcactt tccaggctgg cctcaaactc ctgcactcaa gcaattcttc taccctggcc 1560
cccaagtag ctggaattac aggtgtgcgc catcacaact agctgggtgt cagttttgtt 1620
actctgagag ctgttcactt ctctgaattc acctagagtg gttggaccat cagatgtttg 1680
ggcaaaaactg aaagctcttt gcaaccacac acctccctg agcttacatc actgcccttt 1740
tgagcagaaa gtctaaattc cttccaagac agtagaattc catcccagta ccaaagccag 1800
ataggcccc taggaaactg aggtaagagc agtctctaaa aactaccac agcagcattg 1860
gtgcagggga acttgccat taggttatta tttgagagga aagtcctcac atcaatagta 1920
catatgaaag tgacctcaa ggggatttgt gaatactcat aaggatcttc aggctgaaca 1980
actatgtct ggggaaagaa cggattatgc ccattaaat aacaagttgt gttcaagagt 2040
cagagcagt agctcagagg cccttctcac tgagacagca acatttaaac caaaccagag 2100
gaagtatttg tggaactcac tgctcagtt tgggtaaagg atgagcagac aagtcaacta 2160
gaaaaaag aaaagcaagg aggaggggtg agcaatctag agcatggagt ttgttaagtg 2220
ctctctggat ttgagttgaa gagcatccat ttgagttgaa ggccacaggg cacaatgagc 2280
tctcccttct accaccagaa agtccctggt caggtctcag gtagtgcggt gtggctcagc 2340
tgggttttta attagcgcat tctctatcca acatttaatt gtttgaaagc ctccatatag 2400
ttagattgtg ctttgtaatt ttgttggttg tgctctatct tattgtatat gcattgagta 2460
ttaacctgaa tgttttgtta cttaaatatt aaaaacactg ttatcctaca aaaaaaccct 2520
caaaggctga aaataaagaa ggaagatgga gacaccctct gggggtcctc tc 2572

```

```

<210> 58
<211> 1324
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 58
ctttgcagtg gatgcccttg gcagggtgag ccacaaagga gcaatggagc agggcagcgg 60

```


| | |
|--|------|
| ccgcttggag gacttcctg tcaatgtgtt ctccgtcact ccttacacac ccagcaccgc | 120 |
| tgacatccag gtgtccgatg atgacaaggc gggggccacc ttgctcttct caggcatctt | 180 |
| tctgggactg gtggggatca cattcactgt catgggctgg atcaaatacc aaggtgtctc | 240 |
| ccactttgaa tggaccacgc tccttggggc cgtcctgctg tcagttgggg tgacattcat | 300 |
| cctgattgct gtgtgcaagt tcaaaatgct ctccctgccag ttgtgcaaag aaagtgagga | 360 |
| aaggggtccc gactcggaac agacaccagg aggaccatca tttgttttca ctggcatcaa | 420 |
| ccaaccatc accttccatg gggccactgt ggtgcagtac atccctcctc cttatgggtc | 480 |
| tccagagcct atggggataa ataccagcta cctgcagtct gtggtgagcc cctgcggcct | 540 |
| cataacctct ggaggggag cagccgccat gtcaagtcct cctcaatact acaccatcta | 600 |
| ccctcaagat aactctgcat ttgtggttga tgagggtgc ctttctttca cggacggtgg | 660 |
| aatcacagg cccaatcctg atgttgacca gctagaagag acacagctgg aagaggaggc | 720 |
| ctgtgcctgc ttctctctc ccccttatga agaaatatac tctctccctc gctagaggct | 780 |
| attctgatat aataacacaa tgctcagctc agggagcaag tgtttccgtc attgttacct | 840 |
| gacaaccgtg gtgttctatg ttgtaacctt cagaagttac agcagcgccc aggcagcctg | 900 |
| acagagatca ttcaaggggg gaaaggggaa gtgggaggtg caatttctca gattggtaaa | 960 |
| aattaggctg ggctggggaa attctcctcc ggaacagttt caaattccct cgggtaagaa | 1020 |
| atctcctgta taaggttcag gagcaggaat ttacttttt catccaccac cctccccctt | 1080 |
| ctctgtagga aggcattggt ggtcaattt taaccccagc agccaatgga aaaatcacga | 1140 |
| cttctgagac tttgggagtt tccacagagg tgagagtcgg gtgggaagga agcagggaag | 1200 |
| agaaagcagg ccagctgga gatttctggt tggtgtcct tggcccaaaa gcagactcac | 1260 |
| aatccaaa caactcagct gccatctggc ctctctgagg actctgggta ccttaaagac | 1320 |
| tata | 1324 |

<210> 59
 <211> 683
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

| | |
|--|-----|
| <400> 59 | |
| caggaaagtt cgtgctgcta ggcagaggaa ctgcagcttg ttggcagggt aaggagcct | 60 |
| gtttagctgt gtccagcaac aacttacgtg gtccctgcttg tgttccaggt gaagcgtctg | 120 |
| gccgccgagc agaggaatca agacctgctc attctttcct cgggggatcc atccagcaat | 180 |
| gacatcatct catgctgcca caaggacccc aagtctgggc tgctggggac cagccacgct | 240 |
| cccactgct cattccttca tcctagagac attctgaetc tcctccgact gcgctgtgca | 300 |
| caggcgtgac aagctctttt acatctcagt ctgcacaact tcaggcactt agcagattga | 360 |

tatgcatcca acaaattattg attgaatatc tgctaaatac ccagtaatgt ttcattgagtg 420
 attgggtgaa taaaggaatg ctgggttcctt ctggccatat taactcctgc acaataactaa 480
 gaaaaataaa ttgcactagc tgtggaataa tgtgaatccc aatgtcatct attgaaatat 540
 tacctgacta ttaagaggta tttattttttg tatcttttct agcaaagtaa ataaaaattct 600
 taatacagca tatcccctta ttcacggggg gtatgttcca agaccccccg tggtatgcctg 660
 aaactatgga taataccaga tcc 683

<210> 60
 <211> 914
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 60

Met Gly Pro Phe Lys Ser Ser Val Phe Ile Leu Ile Leu His Leu Leu
 5 10 15

Glu Gly Ala Leu Ser Asn Ser Leu Ile Gln Leu Asn Asn Asn Gly Tyr
 20 25 30

Glu Gly Ile Val Val Ala Ile Asp Pro Asn Val Pro Glu Asp Glu Thr
 35 40 45

Leu Ile Gln Gln Ile Lys Asp Met Val Thr Gln Ala Ser Leu Tyr Leu
 50 55 60

Phe Glu Ala Thr Gly Lys Arg Phe Tyr Phe Lys Asn Val Ala Ile Leu
 65 70 75 80

e Pro Glu Thr Trp Lys Thr Lys Ala Asp Tyr Val Arg Pro Lys Leu
 85 90 95

Glu Thr Tyr Lys Asn Ala Asp Val Leu Val Ala Glu Ser Thr Pro Pro
 100 105 110

Gly Asn Asp Glu Pro Tyr Thr Glu Gln Met Gly Asn Cys Gly Glu Lys
 115 120 125

Gly Glu Arg Ile His Leu Thr Pro Asp Phe Ile Ala Gly Lys Lys Leu
 130 135 140

Ala Glu Tyr Gly Pro Gln Gly Lys Ala Phe Val His Glu Trp Ala His
 145 150 155 160

Leu Arg Trp Gly Val Phe Asp Glu Tyr Asn Asn Asp Glu Lys Phe Tyr
 165 170 175

Leu Ser Asn Gly Arg Ile Gln Ala Val Arg Cys Ser Ala Gly Ile Thr
 180 185 190

Gly Thr Asn Val Val Lys Lys Cys Gln Gly Gly Ser Cys Tyr Thr Lys
 195 200 205

Arg Cys Thr Phe Asn Lys Val Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Gly Cys Glu
 210 215 220

Phe Val Leu Gln Ser Arg Gln Thr Glu Lys Ala Ser Ile Met Phe Ala
 225 230 235 240

Gln His Val Asp Ser Ile Val Glu Phe Cys Thr Glu Gln Asn His Asn
 245 250 255

Lys Glu Ala Pro Asn Lys Gln Asn Gln Lys Cys Asn Leu Arg Ser Thr
 260 265 270

Trp Glu Val Ile Arg Asp Ser Glu Asp Phe Lys Lys Thr Thr Pro Met
 275 280 285

Thr Thr Gln Pro Pro Asn Pro Thr Phe Ser Leu Leu Gln Ile Gly Gln
 290 295 300

Arg Ile Val Cys Leu Val Leu Asp Lys Ser Gly Ser Met Ala Thr Gly
 305 310 315 320

Asn Arg Leu Asn Arg Leu Asn Gln Ala Gly Gln Leu Phe Leu Leu Gln
 325 330 335

Val Glu Leu Gly Ser Trp Val Gly Met Val Thr Phe Asp Ser Ala
 340 345 350

Ala His Val Gln Ser Glu Leu Ile Gln Ile Asn Ser Gly Ser Asp Arg
 355 360 365

Asp Thr Leu Ala Lys Arg Leu Pro Ala Ala Ala Ser Gly Gly Thr Ser
 370 375 380

Ile Cys Ser Gly Leu Arg Ser Ala Phe Thr Val Ile Arg Lys Lys Tyr
 385 390 395 400

Pro Thr Asp Gly Ser Glu Ile Val Leu Leu Thr Asp Gly Glu Asp Asn
 405 410 415

Thr Ile Ser Gly Cys Phe Asn Glu Val Lys Gln Ser Gly Ala Ile Ile

420

425

430

His Thr Val Ala Leu Gly Pro Ser Ala Ala Gln Glu Leu Glu Glu Leu
 435 440 445

Ser Lys Met Thr Gly Gly Leu Gln Thr Tyr Ala Ser Asp Gln Val Gln
 450 455 460

Asn Asn Gly Leu Ile Asp Ala Phe Gly Ala Leu Ser Ser Gly Asn Gly
 465 470 475 480

Ala Val Ser Gln Arg Ser Ile Gln Leu Glu Ser Lys Gly Leu Thr Leu
 485 490 495

Gln Asn Ser Gln Trp Met Asn Gly Thr Val Ile Val Asp Ser Thr Val
 500 505 510

Gly Lys Asp Thr Leu Phe Leu Ile Thr Trp Thr Thr Gln Pro Pro Gln
 515 520 525

Ile Leu Leu Trp Asp Pro Ser Gly Gln Lys Gln Gly Gly Phe Val Val
 530 535 540

Asp Lys Asn Thr Lys Met Ala Tyr Leu Gln Ile Pro Gly Ile Ala Lys
 545 550 555 560

Val Gly Thr Trp Lys Tyr Ser Leu Gln Ala Ser Ser Gln Thr Leu Thr
 565 570 575

Leu Thr Val Thr Ser Arg Ala Ser Asn Ala Thr Leu Pro Pro Ile Thr
 580 585 590

Val Thr Ser Lys Thr Asn Lys Asp Thr Ser Lys Phe Pro Ser Pro Leu
 595 600 605

Val Val Tyr Ala Asn Ile Arg Gln Gly Ala Ser Pro Ile Leu Arg Ala
 610 615 620

Ser Val Thr Ala Leu Ile Glu Ser Val Asn Gly Lys Thr Val Thr Leu
 625 630 635 640

Glu Leu Leu Asp Asn Gly Ala Gly Ala Asp Ala Thr Lys Asp Asp Gly
 645 650 655

Val Tyr Ser Arg Tyr Phe Thr Thr Tyr Asp Thr Asn Gly Arg Tyr Ser
 660 665 670

Val Lys Val Arg Ala Leu Gly Gly Val Asn Ala Ala Arg Arg Arg Val
675 680 685

Ile Pro Gln Gln Ser Gly Ala Leu Tyr Ile Pro Gly Trp Ile Glu Asn
690 695 700

Asp Glu Ile Gln Trp Asn Pro Pro Arg Pro Glu Ile Asn Lys Asp Asp
705 710 715 720

Val Gln His Lys Gln Val Cys Phe Ser Arg Thr Ser Ser Gly Gly Ser
725 730 735

Phe Val Ala Ser Asp Val Pro Asn Ala Pro Ile Pro Asp Leu Phe Pro
740 745 750

Pro Gly Gln Ile Thr Asp Leu Lys Ala Glu Ile His Gly Gly Ser Leu
755 760 765

Ile Asn Leu Thr Trp Thr Ala Pro Gly Asp Asp Tyr Asp His Gly Thr
770 775 780

Ala His Lys Tyr Ile Ile Arg Ile Ser Thr Ser Ile Leu Asp Leu Arg
785 790 795 800

Asp Lys Phe Asn Glu Ser Leu Gln Val Asn Thr Thr Ala Leu Ile Pro
805 810 815

Lys Glu Ala Asn Ser Glu Glu Val Phe Leu Phe Lys Pro Glu Asn Ile
820 825 830

Thr Phe Glu Asn Gly Thr Asp Leu Phe Ile Ala Ile Gln Ala Val Asp
835 840 845

Lys Val Asp Leu Lys Ser Glu Ile Ser Asn Ile Ala Arg Val Ser Leu
850 855 860

Phe Ile Pro Pro Gln Thr Pro Pro Glu Thr Pro Ser Pro Asp Glu Thr
865 870 875 880

Ser Ala Pro Cys Pro Asn Ile His Ile Asn Ser Thr Ile Pro Gly Ile
885 890 895

His Ile Leu Lys Ile Met Trp Lys Trp Ile Gly Glu Leu Gln Leu Ser
900 905 910

Ile Ala

<210> 61
 <211> 501
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 61

Met Lys Lys Glu Gly Arg Lys Arg Trp Lys Arg Lys Glu Asp Lys Lys
 1 5 10 15

Arg Val Val Val Ser Asn Leu Leu Phe Glu Gly Trp Ser His Lys Glu
 20 25 30

Asn Pro Asn Arg His His Arg Gly Asn Gln Ile Lys Thr Ser Lys Tyr
 35 40 45

Thr Val Leu Ser Phe Val Pro Lys Asn Ile Phe Glu Gln Leu His Arg
 50 55 60

Phe Ala Asn Leu Tyr Phe Val Gly Ile Ala Val Leu Asn Phe Ile Pro
 65 70 75 80

Val Val Asn Ala Phe Gln Pro Glu Val Ser Met Ile Pro Ile Cys Val
 85 90 95

Ile Leu Ala Val Thr Ala Ile Lys Asp Ala Trp Glu Asp Leu Arg Arg
 100 105 110

Tyr Lys Ser Asp Lys Val Ile Asn Asn Arg Glu Cys Leu Ile Tyr Ser
 115 120 125

Arg Lys Glu Gln Thr Tyr Val Gln Lys Cys Trp Lys Asp Val Arg Val
 130 135 140

Gly Asp Phe Ile Gln Met Lys Cys Asn Glu Ile Val Pro Ala Asp Ile
 145 150 155 160

Leu Leu Leu Phe Ser Ser Asp Pro Asn Gly Ile Cys His Leu Glu Thr
 165 170 175

Ala Ser Leu Asp Gly Glu Thr Asn Leu Lys Gln Arg Arg Val Val Lys
 180 185 190

Gly Phe Ser Gln Gln Glu Val Gln Phe Glu Pro Glu Leu Phe His Asn
 195 200 205

Thr Ile Val Cys Glu Lys Pro Asn Asn His Leu Asn Lys Phe Lys Gly
 210 215 220

Tyr Met Glu His Pro Asp Gln Thr Arg Thr Gly Phe Gly Cys Glu Ser
225 230 235 240

Leu Leu Leu Arg Gly Cys Thr Ile Arg Asn Thr Glu Met Ala Val Gly
245 250 255

Ile Val Ile Tyr Ala Gly His Glu Thr Lys Ala Met Leu Asn Asn Ser
260 265 270

Gly Pro Arg Tyr Lys Arg Ser Lys Ile Glu Arg Arg Met Asn Ile Asp
275 280 285

Ile Phe Phe Cys Ile Gly Ile Leu Ile Leu Met Cys Leu Ile Gly Ala
290 295 300

Val Gly His Ser Ile Trp Asn Gly Thr Phe Glu Glu His Pro Pro Phe
305 310 315 320

Asp Val Pro Asp Ala Asn Gly Ser Phe Leu Pro Ser Ala Leu Gly Gly
325 330 335

Phe Tyr Met Phe Leu Thr Met Ile Ile Leu Leu Gln Val Leu Ile Pro
340 345 350

Ile Ser Leu Tyr Val Ser Ile Glu Leu Val Lys Leu Gly Gln Val Phe
355 360 365

Phe Leu Ser Asn Asp Leu Asp Leu Tyr Asp Glu Glu Thr Asp Leu Ser
370 375 380

Ile Gln Cys Arg Ala Leu Asn Ile Ala Glu Asp Leu Gly Gln Ile Gln
385 390 395 400

Tyr Ile Phe Ser Asp Lys Thr Gly Thr Leu Thr Glu Asn Lys Met Val
405 410 415

Phe Arg Arg Cys Thr Ile Met Gly Ser Glu Tyr Ser His Gln Glu Asn
420 425 430

Gly Ile Glu Ala Pro Lys Gly Ser Ile Pro Leu Ser Lys Arg Lys Tyr
435 440 445

Pro Ala Leu Leu Arg Asn Glu Glu Ile Lys Asp Ile Leu Leu Ala Leu
450 455 460

Leu Glu Ala Val Trp His Phe His Lys Leu Leu Pro Val Ser Leu Trp
465 470 475 480

Ser Ser Leu Ser Gln Ile Arg Ala Val Pro Ile Thr Cys Lys Leu Ser
 485 490 495

Phe Val Tyr Lys Gly
 500

<210> 62
 <211> 154
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 62

Met Gly Arg Arg Ser Pro Phe Lys Pro Arg Asn Lys Val Phe Gly Phe
 1 5 10 15

Ser Tyr Pro Trp Cys Arg Ser Tyr Gln Pro Phe Pro Arg Lys Arg Ala
 20 25 30

Trp Pro Pro Ser Arg Val Trp Leu Gly Ala Cys Cys Ala Ser Leu Ala
 35 40 45

Ser Pro Pro Lys Gly Thr Ile Pro Ser Gly Glu Tyr Tyr Arg Pro Ala
 50 55 60

Pro Ser Ser Ser Gly Asp Ser Leu Arg Arg Glu Ser Gly Ala Leu Leu
 65 70 75 80

Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Ala Ser Pro Cys Ala Asn His Ala Thr Arg
 85 90 95

Ser Ser Leu Leu Phe Pro Ile Tyr Lys Ile Lys Met Thr Leu Leu Tyr
 100 105 110

Leu Thr Gly Leu Ala Arg Thr His Cys Cys Cys Leu Ala Asp Arg Cys
 115 120 125

Ala Glu Ala Val Glu Ser Ala Phe Tyr Leu Val Gly Ser Leu Cys Ile
 130 135 140

Asn Ala Arg Gly Ala Ala His Leu Thr Asp
 145 150

<210> 63
 <211> 484
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 63

Met Ala Gly Pro Trp Thr Phe Thr Leu Leu Cys Gly Leu Leu Ala Ala
1 5 10 15

Thr Leu Ile Gln Ala Thr Leu Ser Pro Thr Ala Val Leu Ile Leu Gly
20 25 30

Pro Lys Val Ile Lys Glu Lys Leu Thr Gln Glu Leu Lys Asp His Asn
35 40 45

Ala Thr Ser Ile Leu Gln Gln Leu Pro Leu Leu Ser Ala Met Arg Glu
50 55 60

Lys Pro Ala Gly Gly Ile Pro Val Leu Gly Ser Leu Val Asn Thr Val
65 70 75 80

Leu Lys His Ile Ile Trp Leu Lys Val Ile Thr Ala Asn Ile Leu Gln
85 90 95

Leu Gln Val Lys Pro Ser Ala Asn Asp Gln Glu Leu Leu Val Lys Ile
100 105 110

Pro Leu Asp Met Val Ala Gly Phe Asn Thr Pro Leu Val Lys Thr Ile
115 120 125

Val Glu Phe His Met Thr Thr Glu Ala Gln Ala Thr Ile Arg Met Asp
130 135 140

Thr Ser Ala Ser Gly Pro Thr Arg Leu Val Leu Ser Asp Cys Ala Thr
145 150 155 160

r His Gly Ser Leu Arg Ile Gln Leu Leu His Lys Leu Ser Phe Leu
165 170 175

Val Asn Ala Leu Ala Lys Gln Val Met Asn Leu Leu Val Pro Ser Leu
180 185 190

Pro Asn Leu Val Lys Asn Gln Leu Cys Pro Val Ile Glu Ala Ser Phe
195 200 205

Asn Gly Met Tyr Ala Asp Leu Leu Gln Leu Val Lys Val Pro Ile Ser
210 215 220

Leu Ser Ile Asp Arg Leu Glu Phe Asp Leu Leu Tyr Pro Ala Ile Lys
225 230 235 240

Gly Asp Thr Ile Gln Leu Tyr Leu Gly Ala Lys Leu Leu Asp Ser Gln
245 250 255

Gly Lys Val Thr Lys Trp Phe Asn Asn Ser Ala Ala Ser Leu Thr Met
 260 265 270

Pro Thr Leu Asp Asn Ile Pro Phe Ser Leu Ile Val Ser Gln Asp Val
 275 280 285

Val Lys Ala Ala Val Ala Ala Val Leu Ser Pro Glu Glu Phe Met Val
 290 295 300

Leu Leu Asp Ser Val Leu Pro Glu Ser Ala His Arg Leu Lys Ser Ser
 305 310 315 320

Ile Gly Leu Ile Asn Glu Lys Ala Ala Asp Lys Leu Gly Ser Thr Gln
 325 330 335

Ile Val Lys Ile Leu Thr Gln Asp Thr Pro Glu Phe Phe Ile Asp Gln
 340 345 350

Gly His Ala Lys Val Ala Gln Leu Ile Val Leu Glu Val Phe Pro Ser
 355 360 365

Ser Glu Ala Leu Arg Pro Leu Phe Thr Leu Gly Ile Glu Ala Ser Ser
 370 375 380

Glu Ala Gln Phe Tyr Thr Lys Gly Asp Gln Leu Ile Leu Asn Leu Asn
 385 390 395 400

Asn Ile Ser Ser Asp Arg Ile Gln Leu Met Asn Ser Gly Ile Gly Trp
 405 410 415

Ile Gln Pro Asp Val Leu Lys Asn Ile Ile Thr Glu Ile Ile His Ser
 420 425 430

Ile Leu Leu Pro Asn Gln Asn Gly Lys Leu Arg Ser Gly Val Pro Val
 435 440 445

Ser Leu Val Lys Ala Leu Gly Phe Glu Ala Ala Glu Ser Ser Leu Thr
 450 455 460

Lys Asp Ala Leu Val Leu Thr Pro Ala Ser Leu Trp Lys Pro Ser Ser
 465 470 475 480

Pro Val Ser Gln

<211> 256
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 64

Met Phe Gln Thr Gly Gly Leu Ile Val Phe Tyr Gly Leu Leu Ala Gln
 1 5 10 15

Thr Met Ala Gln Phe Gly Gly Leu Pro Val Pro Leu Asp Gln Thr Leu
 20 25 30

Pro Leu Asn Val Asn Pro Ala Leu Pro Leu Ser Pro Thr Gly Leu Ala
 35 40 45

Gly Ser Leu Thr Asn Ala Leu Ser Asn Gly Leu Leu Ser Gly Gly Leu
 50 55 60

Leu Gly Ile Leu Glu Asn Leu Pro Leu Leu Asp Ile Leu Lys Pro Gly
 65 70 75 80

Gly Gly Thr Ser Gly Gly Leu Leu Gly Gly Leu Leu Gly Lys Val Thr
 85 90 95

Ser Val Ile Pro Gly Leu Asn Asn Ile Ile Asp Ile Lys Val Thr Asp
 100 105 110

Pro Gln Leu Leu Glu Leu Gly Leu Val Gln Ser Pro Asp Gly His Arg
 115 120 125

Leu Tyr Val Thr Ile Pro Leu Gly Ile Lys Leu Gln Val Asn Thr Pro
 130 135 140

Leu Val Gly Ala Ser Leu Leu Arg Leu Ala Val Lys Leu Asp Ile Thr
 145 150 155 160

Ala Glu Ile Leu Ala Val Arg Asp Lys Gln Glu Arg Ile His Leu Val
 165 170 175

Leu Gly Asp Cys Thr His Ser Pro Gly Ser Leu Gln Ile Ser Leu Leu
 180 185 190

Asp Gly Leu Gly Pro Leu Pro Ile Gln Gly Leu Leu Asp Ser Leu Thr
 195 200 205

Gly Ile Leu Asn Lys Val Leu Pro Glu Leu Val Gln Gly Asn Val Cys
 210 215 220

Pro Leu Val Asn Glu Val Leu Arg Gly Leu Asp Ile Thr Leu Val His

225 230 235 240

Asp Ile Val Asn Met Leu Ile His Gly Leu Gln Phe Val Ile Lys Val
 245 250 255

<210> 65
 <211> 791
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 65

Met Ser Gln Pro Arg Pro Arg Tyr Val Val Asp Arg Ala Ala Tyr Ser
 1 5 10 15

Leu Thr Leu Phe Asp Asp Glu Phe Glu Lys Lys Asp Arg Thr Tyr Pro
 20 25 30

Val Gly Glu Lys Leu Arg Asn Ala Phe Arg Cys Ser Ser Ala Lys Ile
 35 40 45

Lys Ala Val Val Phe Gly Leu Leu Pro Val Leu Ser Trp Leu Pro Lys
 50 55 60

Tyr Lys Ile Lys Asp Tyr Ile Ile Pro Asp Leu Leu Gly Gly Leu Ser
 65 70 75 80

Gly Gly Ser Ile Gln Val Pro Gln Gly Met Ala Phe Ala Leu Leu Ala
 85 90 95

Asn Leu Pro Ala Val Asn Gly Leu Tyr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Leu
 100 105 110

Arg Tyr Phe Phe Leu Gly Gly Val His Gln Met Val Pro Gly Thr Phe
 115 120 125

Ala Val Ile Ser Ile Leu Val Gly Asn Ile Cys Leu Gln Leu Ala Pro
 130 135 140

Glu Ser Lys Phe Gln Val Phe Asn Asn Ala Thr Asn Glu Ser Tyr Val
 145 150 155 160

Asp Thr Ala Ala Met Glu Ala Glu Arg Leu His Val Ser Ala Thr Leu
 165 170 175

Ala Cys Leu Thr Ala Ile Ile Gln Met Gly Leu Gly Phe Met Gln Phe
 180 185 190

Gly Phe Val Ala Ile Tyr Leu Ser Glu Ser Phe Ile Arg Gly Phe Met

195

200

205

Thr Ala Ala Gly Leu Gln Ile Leu Ile Ser Val Leu Lys Tyr Ile Phe
 210 215 220

Gly Leu Thr Ile Pro Ser Tyr Thr Gly Pro Gly Ser Ile Val Phe Thr
 225 230 235 240

Phe Ile Asp Ile Cys Lys Asn Leu Pro His Thr Asn Ile Ala Ser Leu
 245 250 255

Ile Phe Ala Leu Ile Ser Gly Ala Phe Leu Val Leu Val Lys Glu Leu
 260 265 270

Asn Ala Arg Tyr Met His Lys Ile Arg Phe Pro Ile Pro Thr Glu Met
 275 280 285

Ile Val Val Val Val Ala Thr Ala Ile Ser Gly Gly Cys Lys Met Pro
 290 295 300

Lys Lys Tyr His Met Gln Ile Val Gly Glu Ile Gln Arg Gly Phe Pro
 305 310 315 320

Thr Pro Val Ser Pro Val Val Ser Gln Trp Lys Asp Met Ile Gly Thr
 325 330 335

Ala Phe Ser Leu Ala Ile Val Ser Tyr Val Ile Asn Leu Ala Met Gly
 340 345 350

Arg Thr Leu Ala Asn Lys His Gly Tyr Asp Val Asp Ser Asn Gln Glu
 355 360 365

Met Ile Ala Leu Gly Cys Ser Asn Phe Phe Gly Ser Phe Phe Lys Ile
 370 375 380

His Val Ile Cys Cys Ala Leu Ser Val Thr Leu Ala Val Asp Gly Ala
 385 390 395 400

Gly Gly Lys Ser Gln Val Ala Ser Leu Cys Val Ser Leu Val Val Met
 405 410 415

Ile Thr Met Leu Val Leu Gly Ile Tyr Leu Tyr Pro Leu Pro Lys Ser
 420 425 430

Val Leu Gly Ala Leu Ile Ala Val Asn Leu Lys Asn Ser Leu Lys Gln
 435 440 445

Leu Thr Asp Pro Tyr Tyr Leu Trp Arg Lys Ser Lys Leu Asp Cys Cys
 450 455 460

Ile Trp Val Val Ser Phe Leu Ser Ser Phe Phe Leu Ser Leu Pro Tyr
 465 470 475 480

Gly Val Ala Val Gly Val Ala Phe Ser Val Leu Val Val Val Phe Gln
 485 490 495

Thr Gln Phe Arg Asn Gly Tyr Ala Leu Ala Gln Val Met Asp Thr Asp
 500 505 510

Ile Tyr Val Asn Pro Lys Thr Tyr Asn Arg Ala Gln Asp Ile Gln Gly
 515 520 525

Ile Lys Ile Ile Thr Tyr Cys Ser Pro Leu Tyr Phe Ala Asn Ser Glu
 530 535 540

Ile Phe Arg Gln Lys Val Ile Ala Lys Thr Gly Met Asp Pro Gln Lys
 545 550 555 560

Val Leu Leu Ala Lys Gln Lys Tyr Leu Lys Lys Gln Glu Lys Arg Arg
 565 570 575

Met Arg Pro Thr Gln Gln Arg Arg Ser Leu Phe Met Lys Thr Lys Thr
 580 585 590

Val Ser Leu Gln Glu Leu Gln Gln Asp Phe Glu Asn Ala Pro Pro Thr
 595 600 605

Asp Pro Asn Asn Asn Gln Thr Pro Ala Asn Gly Thr Ser Val Ser Tyr
 610 615 620

Ile Thr Phe Ser Pro Asp Ser Ser Ser Pro Ala Gln Ser Glu Pro Pro
 625 630 635 640

Ala Ser Ala Glu Ala Pro Gly Glu Pro Ser Asp Met Leu Ala Ser Val
 645 650 655

Pro Pro Phe Val Thr Phe His Thr Leu Ile Leu Asp Met Ser Gly Val
 660 665 670

Ser Phe Val Asp Leu Met Gly Ile Lys Ala Leu Ala Lys Leu Ser Ser
 675 680 685

Thr Tyr Gly Lys Ile Gly Val Lys Val Phe Leu Val Asn Ile His Ala
 690 695 700

Gln Val Tyr Asn Asp Ile Ser His Gly Gly Val Phe Glu Asp Gly Ser
705 710 715 720

Leu Glu Cys Lys His Val Phe Pro Ser Ile His Asp Ala Val Leu Phe
725 730 735

Ala Gln Ala Asn Ala Arg Asp Val Thr Pro Gly His Asn Phe Gln Gly
740 745 750

Ala Pro Gly Asp Ala Glu Leu Ser Leu Tyr Asp Ser Glu Glu Asp Ile
755 760 765

Arg Ser Tyr Trp Asp Leu Glu Gln Glu Met Phe Gly Ser Met Phe His
770 775 780

Ala Glu Thr Leu Thr Ala Leu
785 790

<210> 66
<211> 243
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 66

Met Glu Gln Gly Ser Gly Arg Leu Glu Asp Phe Pro Val Asn Val Phe
1 5 10 15

Ser Val Thr Pro Tyr Thr Pro Ser Thr Ala Asp Ile Gln Val Ser Asp
20 25 30

Asp Asp Lys Ala Gly Ala Thr Leu Leu Phe Ser Gly Ile Phe Leu Gly
35 40 45

Leu Val Gly Ile Thr Phe Thr Val Met Gly Trp Ile Lys Tyr Gln Gly
50 55 60

Val Ser His Phe Glu Trp Thr Gln Leu Leu Gly Pro Val Leu Leu Ser
65 70 75 80

Val Gly Val Thr Phe Ile Leu Ile Ala Val Cys Lys Phe Lys Met Leu
85 90 95

Ser Cys Gln Leu Cys Lys Glu Ser Glu Glu Arg Val Pro Asp Ser Glu
100 105 110

Gln Thr Pro Gly Gly Pro Ser Phe Val Phe Thr Gly Ile Asn Gln Pro
115 120 125

Ile Thr Phe His Gly Ala Thr Val Val Gln Tyr Ile Pro Pro Pro Tyr
 130 135 140

Gly Ser Pro Glu Pro Met Gly Ile Asn Thr Ser Tyr Leu Gln Ser Val
 145 150 155 160

Val Ser Pro Cys Gly Leu Ile Thr Ser Gly Gly Ala Ala Ala Ala Met
 165 170 175

Ser Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Thr Ile Tyr Pro Gln Asp Asn Ser Ala
 180 185 190

Phe Val Val Asp Glu Gly Cys Leu Ser Phe Thr Asp Gly Gly Asn His
 195 200 205

Arg Pro Asn Pro Asp Val Asp Gln Leu Glu Glu Thr Gln Leu Glu Glu
 210 215 220

Glu Ala Cys Ala Cys Phe Ser Pro Pro Pro Tyr Glu Glu Ile Tyr Ser
 225 230 235 240

Leu Pro Arg

<210> 67
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 67
 acacgaatgg tagatacagt g 21

<210> 68
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 68
 atacttgtaga gctgttccat g 21

<210> 69
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 69
 actgttacct tgcattgact g 21

<210> 70
 <211> 21
 <212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 70

caatgagaac acatggacat g

21

<210> 71

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 71

ccatgaaagc tccatgtcta c

21

<210> 72

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 72

gagatggca catattctgt c

21

<210> 73

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 73

atcggctgaa gtcaagcatc g

21

<210> 74

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 74

tggtcagtga ggactcagct g

21

<210> 75

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 75

tttctctgct tgatgcactt g

21

<210> 76

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 76

gtgagcactg ggaagcagct c

21

<210> 77

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 77

ggcaaagtgt agagacgtga c

21

<210> 78

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 78

aggtgtcctt cagctgcaa g

21

<210> 79

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 79

tttaagtgt ctctggattt g

21

<210> 80

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 80

atcctgattg ctgtgtgcaa g

21

<210> 81

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 81

ctcttctagc tgggtcaacat c

21

<210> 82

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 82

ccagcaacaa cttacgtggt c

21

<210> 83

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<400> 83

cctttattca cccaatcact c

21

<210> 84

<211> 2165

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 84

| | |
|--|------|
| agaacagcgc agtttgcctt ccgctcacgc agagcctctc cgtggcctcc gcacottgag | 60 |
| cattaggcca gttctcctct tctctctaata ccatccgtca cctctcctgt catccgtttc | 120 |
| catgccgtga ggtccattca cagaacacat ccatggctct catgctcagt ttggttctga | 180 |
| gtctcctcaa gctgggatca gggcagtggc aggtgtttgg gccagacaag cctgtccagg | 240 |
| ccttgggtggg ggaggacgca gcattctcct gtttctctgt tcctaagacc aatgcagagg | 300 |
| ccatggaagt gcggttcttc aggggccagt tctctagcgt ggtccacctc tacagggacg | 360 |
| ggaaggacca gccatttatg cagatgccac agtatcaagg caggacaaaa ctggtgaagg | 420 |
| attctattgc ggaggggccc atctctctga ggctggaaaa cattactgtg ttggatgctg | 480 |
| gcctctatgg gtgcaggatt agttccagct cttactacca gaaggccatc tgggagctac | 540 |
| gggtgtcagc actgggctca gttcctctca tttccatcac gggatatgtt gatagagaca | 600 |
| tccagctact ctgtcagtc tggggtgggt tccccgggcc cacagcgaag tggaaaggtc | 660 |
| cacaaggaca ggatttgtcc acagactcca ggacaaacag agacatgcat ggctgtttg | 720 |
| atgtggagat ctctctgacc gtccaagaga acgcggggag catatcctgt tccatgcggc | 780 |
| atgctcatct gagccgagag gtggaatcca gggtagagat aggagatacc tttttcgagc | 840 |
| ctatatcgtg gcacctggct accaaagtac tgggaatact ctgctgtggc ctattttttg | 900 |
| gcattgttgg actgaagatt ttcttctcca aattccagtg taagcgagag agagaagcat | 960 |
| gggcccgtgc cttattcatg gttccagcag ggacaggatc agagatgctc ccacatccag | 1020 |
| ctgcttctct tcttctagtc ctagcctcca ggggcccagg cccaaaaaag gaaaatccag | 1080 |
| gcggaaactgg actggagaag aaagcacgga caggcagaat tgagagacgc ccggaaacac | 1140 |
| agtgaggag tgactctgga tccagagacg gctcacccga agctctgcgt ttctgatctg | 1200 |
| aaaactgtaa cccatagaaa agctccccag gaggtgcctc actctgagaa gagatttaca | 1260 |
| aggaagagtg tgggtggcttc tcagagtttc caagcagggg aacattactg ggaggtggac | 1320 |
| ggaggacaca ataaaagggt gcgcgtggga gtgtgccggg atgatgtgga caggaggaag | 1380 |
| gagtacgtga ctttgtctcc cgatcatggg tactgggtcc tcagactgaa tggagaacat | 1440 |
| ttgtatttca cattaaatcc ccgttttata agcgtcttcc ccaggacccc acctacaaaa | 1500 |
| ataggggtct tcctggacta tgagtgtggg accatctcct tcttcaacat aatgaccag | 1560 |
| tcccttattt ataccctgac atgtcggttt gaaggcttat tgaggcccta cattgagtat | 1620 |
| ccgtcctata atgagcaaaa tggaaactccc atagtcattct gccagtcac ccaggaatca | 1680 |
| gagaaagagg cctcttggca aagggcctct gcaatcccag agacaagcaa cagtgagtcc | 1740 |
| tcctcacagg caaccacgcc cttcctcccc aggggtgaaa tgtaggatga atcacatccc | 1800 |

acattcttct ttagggatat taaggctctt ctcccagatc caaagtcccg cagcagccgg 1860
ccaaggtggc ttccagatga agggggactg gcctgtccac atgggagtca ggtgtcatgg 1920
ctgccctgag ctggggagga agaaggctga cattacattt agtttgctct cactccatct 1980
ggctaagtga tcttgaaata ccacctctca ggtgaagaac cgtcaggaat tcccatctca 2040
caggctgtgg tgtagattaa gtagacaagg aatgtgaata atgcttagat cttattgatg 2100
acagagtgtg tcctaattgg ttgttcatta tattacactt tcagtaaaaa aaaaaâââââ 2160
aaaaa 2165

<210> 85
<211> 347
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85

Met Ala Leu Met Leu Ser Leu Val Leu Ser Leu Leu Lys Leu Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gln Trp Gln Val Phe Gly Pro Asp Lys Pro Val Gln Ala Leu Val
20 25 30

Gly Glu Asp Ala Ala Phe Ser Cys Phe Leu Ser Pro Lys Thr Asn Ala
35 40 45

Glu Ala Met Glu Val Arg Phe Phe Arg Gly Gln Phe Ser Ser Val Val
50 55 60

His Leu Tyr Arg Asp Gly Lys Asp Gln Pro Phe Met Gln Met Pro Gln
65 70 75 80

Arg Gln Gly Arg Thr Lys Leu Val Lys Asp Ser Ile Ala Glu Gly Arg
85 90 95

Ile Ser Leu Arg Leu Glu Asn Ile Thr Val Leu Asp Ala Gly Leu Tyr
100 105 110

Gly Cys Arg Ile Ser Ser Gln Ser Tyr Tyr Gln Lys Ala Ile Trp Glu
115 120 125

Leu Gln Val Ser Ala Leu Gly Ser Val Pro Leu Ile Ser Ile Thr Gly
130 135 140

Tyr Val Asp Arg Asp Ile Gln Leu Leu Cys Gln Ser Ser Gly Trp Phe
145 150 155 160

Pro Arg Pro Thr Ala Lys Trp Lys Gly Pro Gln Gly Gln Asp Leu Ser

165

170

175

Thr Asp Ser Arg Thr Asn Arg Asp Met His Gly Leu Phe Asp Val Glu
 180 185 190

Ile Ser Leu Thr Val Gln Glu Asn Ala Gly Ser Ile Ser Cys Ser Met
 195 200 205

Arg His Ala His Leu Ser Arg Glu Val Glu Ser Arg Val Gln Ile Gly
 210 215 220

Asp Thr Phe Phe Glu Pro Ile Ser Trp His Leu Ala Thr Lys Val Leu
 225 230 235 240

Gly Ile Leu Cys Cys Gly Leu Phe Phe Gly Ile Val Gly Leu Lys Ile
 245 250 255

Phe Phe Ser Lys Phe Gln Cys Lys Arg Glu Arg Glu Ala Trp Ala Gly
 260 265 270

Ala Leu Phe Met Val Pro Ala Gly Thr Gly Ser Glu Met Leu Pro His
 275 280 285

Pro Ala Ala Ser Leu Leu Leu Val Leu Ala Ser Arg Gly Pro Gly Pro
 290 295 300

Lys Lys Glu Asn Pro Gly Gly Thr Gly Leu Glu Lys Lys Ala Arg Thr
 305 310 315 320

Gly Arg Ile Glu Arg Arg Pro Glu Thr Arg Ser Gly Gly Asp Ser Gly
 325 330 335

Ser Arg Asp Gly Ser Pro Glu Ala Leu Arg Phe
 340 345

<210> 86
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 86
 attcatggtt ccagcaggga c

21

<210> 87
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<400> 87
 gggagacaaa gtcacgtact c

21

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☒ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.